

THESIS

MARBURG

1968

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin

der Universität Marburg

Direktor: Prof. Dr. F. Schleyer

KRITISCH-EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUM
NACHWEIS VON SPEICHEL UND NASENSEKRET UND
VON EPIDERMIS-, SCHLEIMHAUT-UND ORGANZELLEN
AN SPURENTRÄGERN

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung des Doktorgrades

der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät

der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Werner Haas

aus Bonn

Marburg 1968



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153305_0049

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin
der Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. F. Schleyer

KRITISCH-EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUM
NACHWEIS VON SPEICHEL UND NASENSEKRET UND
VON EPIDERMIS-, SCHLEIMHAUT- UND ORGANZELLEN
AN SPURENTRÄGERN

Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von
Werner H a a s
aus Bonn

Marburg 1968

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Marburg
am: 21. 11. 1968

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. W. Straub
Referent: Prof. Dr. med. F. Schleyer
Korreferent: Prof. Dr. med. J. Rohen

MEINER MUTTER GEWIDMET

I n h a l t

	Seite
A. <u>Einleitung und Fragestellung</u>	1
B. <u>Schleimhautzellen</u>	5
1. Speichelnachweis	5
a) Literatur. Der Fall Hirschleb	5
b) Eigene Untersuchungen	8
I. Speichelnachweis als Sekret	8
II. Speichelnachweis auf Stoff	11
III. Zellen im Speichel.	14
IV. Zellen in Wangenabstrichen	16
2. <u>Nachweis von Nasenschleim</u>	19
3. <u>Vaginalzellen</u>	20
a) Vaginalabstriche	24
b) Kasuistik: Befunde in einer Notzuchtsache	29
4. <u>Glans penis</u>	30
5. <u>Vergleich der verschiedenen Schleimhautzellen</u>	33
6. <u>Optimale Darstellungsverfahren der Schleimhautzellen</u>	35
C. <u>Epidermiszellen</u>	38
a) <u>Kasuistik und Literatur</u>	38
b) <u>Eigene Untersuchungen</u>	40
1. Versuche an abgeschabter Leichenhaut	40
2. Nachweis von Oberhautzellen auf Messern nach Schnitten in Kopfschwarte, Brusthaut und Daumenhaut	43

	Seite
3. Die Zellalterung auf Baumwollkordeln	45
4. Vergleich der Epidermiszellen verschiedener örtlicher Herkunft	46
5. Optimale Färbungen von Hautzellen	47
D. <u>Organzellen</u>	50
1. <u>Kasuistik und Literatur</u>	50
2. <u>Leberzellen</u>	53
a) Stiche durch die Haut	53
b) Stiche unmittelbar in das Organ	57
c) Tupfpräparate	59
d) Die Zellalterung auf Metall	60
e) Die Zellalterung auf Baumwolle	61
f) Die Zellalterung auf Baumwollkordeln	63
3. <u>Milzzellen</u>	64
a) Stiche durch die Haut	64
b) Stiche unmittelbar in das Organ	67
c) Tupfpräparate	68
d) Die Zellalterung auf Metall	68
e) Die Zellalterung auf Baumwolle	70
f) Die Zellalterung auf Baumwollkordeln	71
4. <u>Nierenzellen</u>	72
a) Stiche durch die Haut	72
b) Stiche unmittelbar in das Organ	75
c) Tupfpräparate	76
d) Die Zellalterung auf Metall	77

	Seite
e) Die Zellalterung auf Baumwolle	78
f) Die Zellalterung auf Baumwollkordeln	80
5. <u>Differentialdiagnostischer Vergleich der Organzellen</u> . .	81
E. <u>Vergleich von Körperoberflächen-, Schleimhaut- und Organ-</u> <u>zellen</u>	84
F. <u>Methodentechnik</u>	87
G. <u>Zusammenfassung</u>	97
H. <u>Literatur</u>	100
I. <u>Abbildungen</u>	106

A. Einleitung und Fragestellung

Die im Folgenden beschriebenen Untersuchungen wurden durch zwei Kriminalfälle angeregt. Bei beiden Verfahren wurden in den Gutachten u. a. zytologische Verfahren zum Nachweis von Tatspuren verwendet, ohne daß experimentelle Grundlagen vorgelegen hätten.

Im ersten Fall hatte ein Homosexueller im Jahr 1960 seinen Partner im Bett erwürgt und die Leiche in einem Koffer beseitigt (WEIMANN). Im Gutachten des Bundeskriminalamtes wurde "dem Nachweis von Speichelzellen auf dem Kopfkissen, dem Bettlaken und in dem Koffer sehr große Bedeutung beigemessen" (SCHLEYER).

Von MUELLER, HOLZER, HUNT und RADAM wird zwar auf den Anteil von Speichelzellen im Speichel hingewiesen, aber weder diese Autoren noch die übrige Literatur berichten von einem Speichelnachweis durch Zellnachweis. Speichelspuren werden üblicherweise durch chemische Verfahren, besonders durch Bestimmung der Speichelamylase nach MUELLER identifiziert.

Es sollte daher versucht werden, folgende Fragen experimentell zu klären: 1. Kann Speichel durch den Nachweis von Speichelzellen sicher identifiziert werden? 2. Können Unterschiede der Entstehung von Speichelspuren durch zytologische Methoden nachgewiesen werden? 3. Wird das Zellbild der Speichelspuren durch die Spurenträger beeinflußt? 4. Ist eine Altersbestimmung von Speichelspuren mit zytologischen Verfahren möglich?

Die Speichelflüssigkeit ist ein Sekret der Glandula sublingualis, der Glandula submandibularis und der Parotis. Die Zellen des Speichels aber entstammen nach STÖHR den Papilli filiformes der Zunge und nach

HOLZER und HUNT der Mundschleimhaut, also in jedem Fall einem nichtverhornenden Plattenepithel. Da die Untersuchung der Zellen und nicht der Flüssigkeit im Vordergrund dieser Speicheluntersuchungen stand, werden diese im Kapitel "Schleimhautzellen" besprochen. Die Prüfung des Speichelnachweises mit Triphenyltetrazoliumchlorid nach THOMA sprengt den Rahmen einer histologischen Arbeit. Sie wurde jedoch unternommen, um eine Kombination von chemischen und histologischen Verfahren zu versuchen. Die Ergebnisse werden deshalb ebenfalls unter "Schleimhautzellen" wiedergegeben.

Die Vagina und die Glans penis bestehen ebenso wie die Mundschleimhaut aus nichtverhornendem Plattenepithel und stehen wie sie in direkter Verbindung zur "Außenwelt". Da von diesen beiden Genitalgeweben zellhaltige Spuren herrühren können, erschien es erforderlich, auch sie im Vergleich mit Speichelzellen zu untersuchen.

Andererseits sollten mögliche Gemeinsamkeiten oder Unterscheidungsmerkmale dieser beiden Genitalzellformen gesucht werden. Die Bedeutung dieser Untersuchung für die Begutachtung von Notzuchtverbrechen liegt auf der Hand. So konnte in einem solchen Fall im Laufe dieser Untersuchungen der sichere Nachweis von Vaginalepithelien (und Spermien) geführt werden. Hierüber wird unter "Vaginalzellen" berichtet. Ferner sollte geprüft werden, ob die Erkenntnisse der gynäkologischen Zyklusdiagnostik durch Vaginalausstriche auch zur spurenkundlichen Altersbestimmung von Vaginalsekretspuren verwendet werden können.

Obwohl im Epithel der Vagina und der Glans penis keine schleimbildenden Becherzellen, wie in der Mundschleimhaut, vorhanden sind, es sich also im anatomischen Sinn nicht um echte Schleimhäute handelt,

werden diese beiden Gewebe doch im Kapitel "Schleimhautzellen" behandelt. Das "Vaginalsekret" ist ja kein Produkt einer aktiven Sekretion, sondern entsteht durch bakterielle Zytolyse und Glykolyse (STÖHR, MARTIUS). Auch die Glans enthält nur an der Fossa navicularis Schleimdrüsenzellen (STÖHR). Da beide Gewebe jedoch von einer schleimähnlichen Flüssigkeit bedeckt ist, erscheint diese Verallgemeinerung für spurenkundliche Untersuchungen zulässig.

Nasenschleim wurde mituntersucht, da er nach einer persönlichen Mitteilung von RAUSCHKE histologisch mit Vaginalschleim verwechselt werden könne.

Der zweite Teil dieser Untersuchung wurde durch Veröffentlichungen von UNDRITZ und HEGG sowie HEGG und UNDRITZ über einen Genfer Schwurgerichtsprozeß (1959), in dem die Autoren als Gutachter tätig waren, angeregt. Sie behaupteten in dem Prozeß, der zur Verurteilung des Angeklagten führte, daß dieser als dringend tatverdächtig anzusehen sei, da sie mit Hilfe eines von ihnen entwickelten Verfahrens "eindeutig Leberzellen" und sogar "Gefäßendothelien, offenbar aus der Darmregion" an seiner Kleidung und einem Dolch, dem angeblichen Tatwerkzeug, gefunden hätten. Das Opfer war an einem Durchschuß der Brustorta und einem Leberstich verstorben. Da die Autoren keinerlei experimentelle Voruntersuchungen vorgenommen hatten, erregte diese Behauptung starke Zweifel, wenn auch ein Gegenbeweis damals nicht erbracht werden konnte.

Bei der Suche nach Literatur über dieses Gebiet der Spurenkunde zeigte sich, daß, abgesehen von zytologischen Untersuchungen an Blut, Sperma und Vaginalepithelien, die Körperzellen bisher eine recht stiefmütterliche Behandlung erfahren hatten. Es wurde zwar von KOCKEL (1905), und spä-

ter von REUTER, HABERDA, WEIMANN, SIMONIN und von ZERNDT und SIMON über entsprechende Untersuchungen berichtet. Aber eine systematische Prüfung der Möglichkeiten und Grenzen der histologischen Spurenkunde lag nicht vor. Es fehlte besonders der Vergleich von isolierten Zellen verschiedener Herkunft untereinander. Da sich die Zellen durch das umgebende Milieu und die Zeitdauer der unfixierten Lagerung gegenüber den zur Untersuchung frisch entnommenen Geweben unterscheiden, war die herkömmliche Histologie nur unter Vorbehalten anwendbar. Es wurden daher die Fragen der Einzelzellmorphologie, der Zellalterung und der zu erwartenden Ausbeute je nach Spureenträger an Zellen von Leber, Niere und Milz untersucht.

In dem von UNDRITZ und HEGG berichteten Fall wurde von der Verteidigung gefragt, ob es sich bei den von den Untersuchern gefundenen Zellen nicht auch um Epidermiszellen handeln könne. Der Beschuldigte habe sich nämlich kurze Zeit vor der Asservierung der angeblichen Mordwaffe mit dieser erheblich an der Hand verletzt. Daher wurden auch Epidermiszellen in diese Untersuchungen miteinbezogen.

Mit Ausnahme der Speichel- und Nasenschleimuntersuchungen wurden alle übrigen Zelnachweise an Material von menschlichen Leichen vorgenommen.

B. Schleimhautzellen

1. Speichelnachweis

a) Literatur: Der Fall Hirschleb

Obwohl rund 38 % der geformten Bestandteile des Speichels Epithelien und Mucin sind (MUELLER), werden in der Literatur für die Untersuchung von Speichelspuren im wesentlichen nur chemische Nachweise angegeben. Die Bestimmung der Speichelamylase nach MUELLER hat hierbei die größte Bedeutung. Sie wird von NELSON und KIRK sowie RADAM bei Ausschluß anderer amylasehaltiger Spuren als spezifisch angesehen. NELSON und KIRK fanden, daß Amylase in "beträchtlichen Mengen" im Urin, in Samenflüssigkeit, Blutserum und Faeces vorkomme, und fordern daher, daß diese Stoffe erst durch spezifische Verfahren als mögliche Quellen für den positiven Ausfall der Reaktion ausgeschlossen werden. MUELLER fand zwar im Nasensekret, Urin und Kot ebenfalls einen Stärkeabbau, "welcher aber nie vollständig war". Im Spermafleck, im Vaginalsekret und im Schmutzfleck war bei seinen Untersuchungen kein Stärkeabbau nachweisbar. Auch die Mikromethode nach SCHAID beruht auf dem Nachweis der Amylase. MUELLER verwendet als Indikator Lugol'sche Lösung. Durch den negativen Ausfall der Jod-Stärke-Reaktion werde die Spaltung der der Versuchsanordnung zugesetzten Stärke durch die Speichelamylase bewiesen.

Dagegen bestimmt SCHAID die bei dieser Spaltung entstandenen Zucker durch die Methode nach FOLIN-WU. Diese Methode ist recht aufwendig und kompliziert, eignet sich aber für kleine Speichelspuren.

THOMA gab noch einen anderen Amylasenachweis an. Er weist die bei der Stärkespaltung entstehenden Zucker durch Reduktion von Silbernitrat-acetonlösung zu metallischem Silber nach. Das Verfahren, die Spaltprodukte der Stärkespaltung, also die Zucker, durch Reduktionsproben nachzuweisen und dann auf die Anwesenheit von Speichelamylase zu schließen, ist aber naturgemäß mit vielen Fehlerquellen behaftet. Reduzierende Substanzen sind ja sehr weit verbreitet und in dem sehr verschiedenartigen Untersuchungsgut können sie stets vorhanden sein. Zucker selbst sind in Urin, Blutserum, Vaginalsekret und selbst im Speichel fast immer nachweisbar.

Die Methoden von SCHAID sowie von THOMA sind also nur dann wirklich beweisend, wenn die Spuren selbst vor der Inkubation eine negative Reduktionsprobe zeigen. Bei den üblicherweise kleinen Speichelspuren vermindert sich dann aber das Material noch weiter, so daß durch diese Vorprobe oft das gesamte Material aufgebraucht wird. Im Verfahren von MUELLER wird hingegen die spezifische Wirkung der Amylase direkt nachgewiesen. Wie auch RADAM sagt, ist daher das Verfahren von MUELLER viel genauer. Die übrigen Amylasenachweise wurden angegeben, um den Nachteil der relativ langen Inkubation der Methode nach MUELLER auszugleichen. Die Amylasebestimmung im Speichel nach MUELLER erfordert 8 - 12 Stunden. RADAM hat eine Modifikation dieses Verfahrens angegeben, die empfindlicher sein soll und nur 1 1/2 Stunden in Anspruch nimmt.

NELSON und KIRK haben zusätzlich die Bestimmung der alkalischen Phosphatase, des Thiocyanats und des Nitrits in Speichelspuren unternommen. Da die alkalische Phosphatase auch in anderen Körperflüssig-

keiten vorkommt, und das Nitrit nur in frischen Spuren nachweisbar ist, sind diese Methoden von untergeordneter Bedeutung. Dagegen sei der Nachweis von Thiocyanat sehr empfindlich und relativ spezifisch, aber bei negativem Ausfall der Reaktion nicht beweisend.

Der Nachweis von Rhodankalium wird von MUELLER, REUTER und HOLZER angegeben. Ihm kommt mehr die Bedeutung einer Suchprobe zu. Auch der Nachweis von Ascorbinsäure als speichelspezifische Methode von YOSHIDA und die Modifikation von THOMA mit Triphenyltetrazoniumchlorid ist ein rein chemisches Verfahren. RADAM bezweifelt, daß es sich hierbei um die Bestimmung der Ascorbinsäure handelt und kommt durch theoretische Überlegungen zu dem Schluß, daß es sich ebenfalls um den Nachweis der Stärkespaltprodukte handelt.

Im Gegensatz zu den erwähnten chemischen Untersuchungen wurde die mikroskopische Untersuchung von Speicheldrüsen unseres Wissens bisher nur zur Unterscheidung von Vaginalzellen (HUNTER, MUELLER, RADAM) angewandt, beziehungsweise die Speicheldrüsen wurden zur Geschlechtsbestimmung an Hand der Barr'schen Kernkörper nach KOSENOW, GLORFELD und HELLMANN herangezogen. Um so erstaunlicher war es, daß im Fall Hirschleib im Gutachten des Bundeskriminalamtes dem Nachweis von Speicheldrüsen eine "sehr große Bedeutung zugemessen wurde" (SCHLEYER). (Der Homosexuelle Hirschleib erwürgte einen seiner Partner im Bett, und es wurden angeblich zahlreiche Speicheldrüsen auf dem Kopfkissen, dem Bettlaken und im Koffer, der zum Abtransport der Leiche benutzt wurde, nachgewiesen.) MUELLER, REUTER, HOLZER und RADAM wiesen zwar auf den Anteil an Zellen hin, aber unseres Wissens ist bisher von keinem Speichelnachweis berichtet worden, welcher auf der

Identifizierung von Speichelzellen beruht.

Es sollte daher versucht werden, den Aussagewert und die Spezifität des Speichelnachweises im Vergleich mit Nasenschleim, Vaginalzellen und Zellen der Glans penis nachzuprüfen. Daneben suchten wir ein Verfahren zu erarbeiten, das durch Kombination des Zellnachweises und der Reduktionsprobe nach THOMA mit Triphenyltetrazoniumchlorid die Untersuchungszeit gegenüber dem MUELLER'schen Verfahren verkürzt und den meist kleinen Spuren gerecht wird. Da die Methode von THOMA nach Angaben des Verfassers gleichzeitig eine Blutgruppenbestimmung auf der Basis der Isoagglutinine ermöglicht, schien sich hier ein Weg zu rascher und umfassender Diagnosestellung zu bieten.

b) Eigene Untersuchungen

I. Speichelnachweis als Sekret

Für die Untersuchung von Speichelspuren an Briefmarken und Briefverschußlaschen gab THOMA eine Nachweismethode an, die auf der Reduktion von Triphenyltetrazoliumchlorid zu Triphenylformazan durch Ascorbinsäure beruhen soll. THOMA stützt sich dabei auf die Mitteilung von GLAVIND und Mitarbeitern, daß sich im Speichel 24 µg/ml Ascorbinsäure finden. Bei dem von THOMA angegebenen Verfahren handelt es sich um die Modifikation einer Methode von YOSHIDA.

Da THOMAs Methode sehr einfach auszuführen ist, bot sich die Möglichkeit einer Kombination mit histologischem Verfahren an. Dieses Vorgehen wäre besonders für kleine Spuren geeignet gewesen, da THOMA

selbst auch die Kombination mit einer Blutgruppenbestimmung angibt. Da es aber fraglich erschien, daß eine auf dem Nachweis der Ascorbinsäure basierende Speichelnachweismethode spezifisch sei, wurden mehrere einfache, orientierende Versuche gemacht. Ascorbinsäure ist außer im Speichel auch im Blutserum, im Urin und in anderen Körperflüssigkeiten vorhanden. Es sollte daneben untersucht werden, ob die Reaktion auch für Speichelflecke auf Stoff anwendbar ist.

Es wurden 0,1 ml Spontanspeichel mit 0,1 ml 2, 3, 5 Triphenyltetrazoliumchloridlösung 1 %ig und 0,05 ml Natronlauge in einem Reagenzglas bei 80° C im Brutschrank inkubiert. Es bildete sich nach wenigen Minuten ein feinkörniger, dunkelroter Niederschlag. Nun wurde aus einem 0,5 cm² großen Stück Stoff ein Speichelfleck 1 Stunde mit 2 ml Aqua dest. bei Zimmertemperatur in einer Abdampfschale extrahiert. Nach Entfernung des Stoffstückchens wurde der Extrakt bei 100° C zur Hälfte eingengt, 0,1 ml wurden wie oben behandelt. Es trat rotviolette Färbung und ein kaum wahrnehmbarer Niederschlag auf. Der Rest des Extraktes wurde auf 4 Objektträger aufgetropft und nach dem Eintrocknen je mit Hämatoxylin-Eosin, Methyleneblau, Kresylechtviolett und nach Papanicolaou mit Polychrom 3a gefärbt. Es zeigten sich schemenhaft angefärbte, polyedrische Zellen, die eine genaue Differenzierung kaum ermöglichten.

Schließlich wurden noch je 0,1 ml Urin, Blutserum und eine Lösung von 2 Ascorbinsäurekristallen in 1 ml Aqua dest. in der oben beschriebenen Weise behandelt. Diese 3 Flüssigkeiten zeigten einen fast gleichstarken grobkörnigen, dunkelroten Niederschlag.

Um die quantitativen Unterschiede im Ausfall der Reaktion annähernd

zu messen, wurde ein einfaches Gerät gebaut: In ein auf der Innenseite mit Tusche geschwärztes Papprohr von 5 cm Durchmesser und 20 cm Länge wurde auf der einen Seite eine mattierte, kleine Kugelbirne von 40 Watt und auf der anderen Seite ein herkömmlicher Belichtungsmesser (Marke "Sixtomat") eingeklebt. In die Mitte des Rohres wurde eine Öffnung von 1 cm Durchmesser gebohrt, in die gerade eines der verwendeten Reagenzgläser eingeschoben werden konnte. Der Raum zwischen eingeschobenem Reagenzglas und Rohrwand wurde mit schwarzem Karton so zugeklebt, daß das Licht der Birne nur durch das Reagenzglas zur Photozelle gelangen konnte. Es wurde bei einer Empfindlichkeit von 18/10 Din der zur Belichtungszeit 1/100 sec gehörende Blenden-Wert bestimmt. Wenn ein mit Wasser gefülltes Reagenzglas eingeführt wurde, betrug dieser Wert 16. Die obenbeschriebenen Versuche wurden wiederholt, und jeweils nach 10 Minuten Inkubation wurde gemessen. Dabei ergaben sich folgende Werte: Speichelfleck auf Stoff Blende 11, Speichel direkt 8, Ascorbinsäurelösung und Blutserum 4 und Urin 2,8. Diese Bestimmung ist natürlich nicht genau, zumal da die Eigendichte der untersuchten Lösung nicht berücksichtigt wird. Es ergibt sich aber, daß die Farb- und Niederschlagsdichte mit Urin am stärksten und mit Speichelfleckextrakt am schwächsten ist. Hieraus folgt, daß das Verfahren von THOMA sehr unspezifisch ist und für die Identifizierung von Speichelspuren nicht geeignet ist.

Daneben zeigte sich, daß auf 100° C erhitzte Speichelspuren unbrauchbare histologische Bilder ergeben.

Inzwischen hat RADAM mitgeteilt, daß die Probe von THOMA nicht auf dem Nachweis der Ascorbinsäure beruhen könne, da selbst, wenn die

von GLAVIND angegebene Menge von 24 $\mu\text{g/ml}$ Askorbinsäure auch in den Speichelspuren vorhanden wäre, die Endkonzentration in der Versuchsanordnung nur noch $1 : 2 \times 10^8$ beträgt. RADAM fand aber in einer Verdünnungsreihe, daß die Grenze der Unterscheidungsmöglichkeit gegenüber Wasser bei einer Konzentration von $1 : 10^5$ liegt und führt den Ausfall der Reaktion auf den Abbau der Dextrine der Briefmarkengummierung durch die Speichelamylase zurück. Hierdurch ist aber der positive Ausfall unserer Untersuchungen nicht zu erklären, da keine Dextrine zugesetzt worden waren. Es müßten also noch andere reduzierende Substanzen im Speichel vorhanden sein oder der Speichel und auch der Urin müßte Dextrine enthalten.

II. Speichelnachweis auf Stoff

Die gerichtlich-medizinisch am häufigsten zu untersuchenden Speichelspuren finden sich auf Briefmarken oder Verschußlaschen von anonymen Briefen oder an Zigarettenmundstücken, also auf Papier. Daneben treten gelegentlich Spuren auf Stoff, wie z.B. im oben zitierten Fall Hirschleb auf. Bei den Spuren auf Papier wird die Speicheluntersuchung im allgemeinen nur eine Art Vorprobe sein, zur Feststellung ob eine weitere Untersuchung auf Blutgruppenzugehörigkeit und Geschlechtszugehörigkeit erfolgversprechend ist. Im Falle der Spuren auf Stoff handelt es sich auch um eine Differenzierung gegenüber anderen Organsekreten z.B. von Spermaspuren. Die unter "Zellen in Wangenabstrichen" referierten eigenen Ergebnisse zeigen die Möglichkeit einer Unterscheidung zwischen

Speichelspuren auf Knebeln und solchen von Spontanspeichel. Im Folgenden wurde ein Vergleich verschiedener Aufarbeitungsmethoden angestrebt, da die Trennung der Spur vom Spurenräger besonders bei Stoffen auf große Schwierigkeiten stoßen kann.

Als Modell für die Entstehung von Speichelspuren auf Knebeln wurde 15 Minuten auf einem ca 4 cm^2 großen, weißen Leinentuch gekaut. Das Tuch wurde dann bei Zimmertemperatur in einem staubdichten Karton getrocknet, was etwa 6 Stunden dauerte. Als Modell z.B. für Abrinnsuren beim Erwürgen, wurde ein weiteres Tuch von 4 cm^2 mit 2 ml Spontanspeichel getränkt und ebenfalls wie oben getrocknet. Nach dem Eintrocknen wurden beide Tücher in je 4 Stücke von etwa 1 cm^2 zerschnitten. Von beiden Gruppen wurden je 2 Läppchen einzeln in Abdampfschalen mit 1 ml 0,9 %iger Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur 2 Stunden lang extrahiert. Wie Vorversuche zeigten, bringen längere Extraktionszeiten eine nur unwesentliche Steigerung der Ausbeute.

Nach Entfernen der Läppchen wurden die Extrakte 5 Min bei 3500 U/min zentrifugiert und die Überstände bis auf 0,4 ml abgesaugt. Nach Aufschütteln des Sediments wurde der Inhalt je einer Abdampfschale auf 2 Objektträger aufgetropft und an der Luft getrocknet.

Die übrigen Stoffläppchen beider Gruppen wurden mit je 0,2 ml 0,9 %iger Kochsalzlösung befeuchtet und nach 10 Minuten jeweils zwischen 2 Objektträgern ausgedrückt. Danach wurden auch diese 8 Präparate an der Luft getrocknet.

Von den insgesamt 16 Präparaten stammten also je 8 von den gekauten und den mit Spontanspeichel getränkten Tüchern. Je die Hälfte dieser beiden Präparategruppen wurden durch Extraktion bzw. durch Aus-

pressen der Läppchen erhalten.

Die Präparate wurden nun so geordnet, daß in einer Vierergruppe je ein Präparat jeder Entstehungsart der Spuren und jeder Behandlungsart vorlag. Diese Vierergruppen von Präparaten wurden dann entweder alle mit Methylenblau oder mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach oder mit Peroxydasefärbung nach Graham-Knoll oder mit Kresylechtviolett gefärbt (s. Methodentechnik).

Die Präparate der 4 Gruppen waren gleichmäßig gut angefärbt. Die Präparate von gekauten Tüchern waren mit im Durchschnitt 65 Zellen je Präparat deutlich zellreicher als die der mit Speichel benetzten Tücher. Diese enthielten im Durchschnitt 42 Zellen je Präparat. Die durch Zentrifugieren nach der Extraktion gewonnenen Präparate waren bei beiden Gruppen wiederum zellreicher als die durch Auspressen zwischen Objektträgern hergestellten. Die Durchschnittszellzahl der zentrifugierten Gruppe der von gekauten Tüchern stammenden Präparate betrug 82 und der von mit Speichel benetzten Tüchern stammenden 55. Dagegen lag die Durchschnittszellzahl der ausgepreßten Gruppe bei den von gekauten Tüchern stammenden Präparaten 38 Zellen je Präparat und bei den von benetzten Tüchern stammenden 29 Zellen je Präparat. Es empfiehlt sich daher, Speichelspuren auf Stoff durch Extraktion mit 0,9 %iger NaCl-Lösung 2 Stunden zu extrahieren und den Extrakt 5 min bei 3500 U/min zu zentrifugieren.

Unterschiede der äußeren Zellform zwischen den von benetzten und von gekauten Tüchern stammenden Präparaten fanden sich nicht. Lediglich der höhere Gehalt an Stoffasern in den Präparaten, die durch Kauen auf Stoff gewonnen wurden, fiel auf. An Hand der unterschiedlichen Zellzahlen oder der äußeren Zellformen ließ sich kein zuverlässiges Unter-

scheidungsmerkmal der beiden Entstehungsarten der Speichelspuren finden. Dies trifft aber nur bei den hier verwandten Färbungen zu, wie im Abschnitt "Zellen in Wangenabstrichen" noch gesagt werden wird.

III. Zellen im Speichel

Es wurden orientierende Untersuchungen über die Färbbarkeit der Speicheldrüsenzellen mit verschiedenen Methoden, die im Kapitel "Methodentechnik" genauer beschrieben werden, vorgenommen. Von 8 gesunden Versuchspersonen wurde 4 Stunden oder länger nach der letzten Nahrungsaufnahme (um Verunreinigungen durch Speisereste zu vermeiden) der Spontanspeichel in ein Reagenzglas laffengelassen. Die 8 Speichelproben wurden dann in einem Becherglas durch Rühren vermischt, um eine mittlere Speicheldrüsenzellzahl pro ml zu erhalten. Es wurde besonders darauf geachtet, daß nur Spontanspeichel abgegeben wurde, da der durch Saugen produzierte Speichel, wie wir uns selbst überzeugen konnten, deutlich zellreicher ist.

Von der erhaltenen Speichelmischung wurden je 0,1 ml auf 24 Objektträger aufgetropft, 12 Präparate wurden in einem staubdichten Kasten luftgetrocknet, was etwa eine Stunde in Anspruch nahm. Die übrigen 12 Präparate wurden mehrfach durch eine Bunsenflamme gezogen und so in wenigen Minuten getrocknet. Von beiden Gruppen wurden je zwei nach Formolfixation mit Methylenblau, mit Kresylechtviolett, mit Hämatoxylin-Ehrlich und Eosin, sowie mit der Lepehnefärbung, mit der Peroxydasereaktion nach Lepehne und nach Papanicolaou mit Polychrom 3a gefärbt.

Im Durchschnitt fanden sich je Präparat 62,8 Zellen. Diese lagen meistens einzeln. In 5 Präparaten fanden sich aber auch kleinere Zellverbände von bis zu 16 Zellen. Meistens handelte es sich um große, unregelmäßig geformte polygonale Zellen mit hellem Protoplasma und kleinen ovalen Kernen (Abbildung 1). Daneben sah man aber auch häufig rundliche, etwa gleichgroße Zellen mit ovalem Kern. Das Kern-Plasma-Verhältnis schwankte zwischen etwa 1 : 8 und 1 : 15. Bei beiden Zelltypen fanden sich weder im färberischen Verhalten noch in der Zellgröße deutliche Unterschiede. Im übrigen waren reichlich Bakterien der Mundflora vorhanden. "Speichelkörperchen", das sind jene runden, kernhaltigen Zellen mit schmalen Protoplasmasaum, die nach HOLZER durch Einwirkung des hypotonen Speichels aus Leukozyten entstehen sollen, fanden sich in keinem der Präparate. Es ergab sich daher auch keine Möglichkeit, durch peroxydasepositives Verhalten in der Lepehne-Reaktion die Hypothese ihrer Herkunft zu erhärten.

Färberisch wurden die besten Ergebnisse mit Hämatoxylin-Eosin, Kresylechtviolett und der Färbung nach Papanicolaou erzielt. Alle drei Färbungen ergaben etwa gleichgut differenzierte Zellbilder. Bei der Papanicolaou-Färbung mit Polychrom 3a waren die Speicheldrüsenzellen stets azidophil, wodurch sich eine gewisse Unterscheidungsmöglichkeit gegenüber den Vaginalsekretausstrichen anbot. Hierauf wird in dem entsprechenden Kapitel noch näher eingegangen. Die Färbung mit Methylenblau war anfangs ebenfalls recht gut zu beurteilen, nur blaßte sie stark ab, so daß die Präparate nach wenigen Wochen kaum noch zu verwerten waren. Sowohl die Lepehne-Färbung als auch die Peroxydase-Reaktion nach Lepehne stellten nur die Zellkerne mit Kernechtrot bzw. mit Giemsa dar. Das

Protoplasma blieb ungefärbt. Diese beiden letzten Färbungen waren im wesentlichen angewandt worden, um Vergleichsmöglichkeiten gegenüber den Leberzellfärbungen zu haben, die von UNDRITZ und HEGG angegeben wurden. Näheres wird im Kapitel "Organzellen" gesagt werden. Für die eigentliche Untersuchung von Speicheldrüsen sind diese Verfahren ohne Bedeutung.

IV. Zellen in Wangenabstrichen

Wenn ein Knebel in die Mundhöhle eingeführt wird, wird stets die Mund- und Wangenschleimhaut auf dem Knebel abgerieben. Es ist daher zu erwarten, daß Speichel, der sich auf einem Knebel befindet, zellreicher ist und mehr Zellverbände enthält, als Spontanspeichel, wie er sich zum Beispiel als Abrinnspur nach Erwürgen findet. Wir suchten daher nach einem gesetzmäßigen Unterschied zwischen dem Zellbild bei mechanischer Traumatisierung der Mundschleimhaut und dem des Spontanspeichels. Daneben sollten auch mögliche morphologische Änderungen, die Wangenschleimhautzellen etwa nach ihrer Abschilferung durch die Speichelflüssigkeit erfahren, untersucht werden.

Mit der Schmalseite von Objektträgern wurde unter leichtem Druck Wangenschleimhaut abgeschabt. Die Zellen wurden wie bei einem Blutausstrich sofort auf einem anderen Objektträger ausgestrichen. Da die so gewonnene Schleimhautmenge meist relativ groß war, konnten stets mehrere Objektträger von einem Abstrich beschickt werden. Von den 40 Ausstrichen wurden nach Lufttrocknen je 4 mit Methylenblau, mit Hämytoxy-

lin-Eosin, mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach, mit Hämatoxylin-Eosin-Orange nach Matthis, mit Kresylechtviolett, nach Pappenheim-Unna, nach Papanicolaou mit Polychrom 3a und mit Polychrom 3c, mit der Lepehne-Färbung und mit der Peroxydasereaktion nach Graham-Knoll gefärbt.

Es fanden sich fast nur zusammenhängende Zellverbände von bis zu 100 Zellen. Einzelzellen bildeten fast eine Ausnahme. Die im Spottanspeichel so zahlreichen Bakterien waren kaum noch vorhanden. Pro Präparat zeigten sich im Durchschnitt über 600 Zellen. Rundliche Formen waren kaum vertreten. Das Verhältnis zwischen runden und polygonalen Zellen war etwa 1 : 150. Es war daraus zu schließen, daß die runden Zellformen durch Quellung in der Speichelflüssigkeit entstehen. Um diese Hypothese zu bestätigen, wurde ein weiterer Abstrich der Wangenschleimhaut mit destilliertem Wasser aufgeschwemmt und in einer Leukozytenzählkammer nach Türck ungefärbt beobachtet. Die Zellen, welche anfangs meist polygonal waren, waren in der Tat schon nach etwa 15 Minuten zum großen Teil in runde Formen übergegangen.

Sämtliche Färbungen waren bei gleichen Färbezeiten kräftiger und klarer als die des Spottanspeichels. Das Abblassen der Methylenblaufärbung war bei den Zellverbänden kaum noch sichtbar, nur Einzelzellen zeigten es. In der Färbung nach Matthis waren die Zellen wie in der einfachen Hämatoxylin-Eosin-Färbung dargestellt. Die von ROULET angegebene kräftig-gelbe Anfärbung von Schleim war in keinem der Präparate zu beobachten. Durch die Lepehne-Färbung und die Peroxydase-reaktion nach Graham-Knoll waren vereinzelte Erythrozyten dargestellt. Außerdem sind in diesen Präparaten einige bräunliche Flecke von un-

charakteristischer Form zu sehen, die als Hämoglobin angesehen wurden. Bei der Papanicolaou-Färbung mit Polychrom 3c waren die Kerne blau und das Zytoplasma rot dargestellt. Dagegen fanden sich in den Färbungen mit Polychrom 3a sowohl eosinophile Zellen als auch zyanophile Zellen mit leuchtend-grünem Zytoplasma. Das Verhältnis zwischen eosinophilen und zyanophilen Zellen war etwa 3 : 2. Man hätte diese Präparate ohne Kenntnis ihrer Herkunft fast mit Vaginalzellen in Abstrichen der mittleren Follikelphase verwechseln können, besonders da die Zyanophilen manchmal etwas kleiner erschienen, und die Kerne in Beziehung zum Zytoplasma größer waren als die der eosinophilen. Man ist fast versucht, die zyanophilen Zellen als "Intermediärzellen der Mundschleimhaut" anzusprechen. Hier scheint eine Unterscheidungsmöglichkeit zwischen Spontanspeichelzellen und durch mechanisches Abreiben gelösten Wangenschleimhautzellen vorhanden zu sein. Im Spontanspeichel wurden keine zyanophilen Zellen in der Papanicolaou-Färbung mit Polychrom 3a gesehen. Voraussetzung für diese Unterscheidung ist aber, daß die Spuren als eindeutige Speichelspuren identifiziert werden können.

Die Färbung mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach, die besonders zur Darstellung von Kernanhängen geeignet sein soll (UNDRITZ¹), stellte die Kerne dunkelviolett und das Zytoplasma rot dar. Eindeutige Kernanhängsel oder Kernkörperchen fanden wir in unseren Präparaten nicht. Die Färbung nach Pappenheim-Unna ergab ein klares Zellbild mit violetten Kernen und bläulichem Zytoplasma. Sie war aber den übrigen Färbungen nicht überlegen, so daß von dieser Färbung keine Erweiterung der zytologischen Möglichkeiten zu erwarten ist, es sei denn, in der Speichelspur finden sich größere Blutbeimengungen. Sie

empfiehlt sich im übrigen nur wegen der relativ einfachen Technik.

2. Nachweis von Nasenschleim

Nach einer persönlichen Mitteilung von RAUSCHKE soll Nasenschleim manchmal schwer von Vaginalsekret unterscheidbar sein. Nach MERKEL findet sich aber im Nasenschleim kein Glykogen. Hier wäre also eine Möglichkeit der Unterscheidung durch die Anfärbung mit Lugol'scher Lösung gegeben. Diese müßte mit Nasenschleim negativ ausfallen.

Um dennoch einen histologischen Vergleich zu haben, wurde folgende, nur orientierende Untersuchung vorgenommen: Aus 5 Taschentüchern, welche kurz zuvor benutzt worden und noch feucht waren, wurde das Sekret sofort auf 5 Objektträger ausgepreßt. Nach dem Trocknen wurden 3 Präparate nach Papanicolaou mit Polychrom 3a und 2 mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Es zeigten sich je Präparat etwa 500 Zellen. Sie waren meist länglich, zum Teil auch spindelförmig, mit einem länglichen, exzentrisch sitzenden Kern. Das Zytoplasma war eosinophil und gering strukturiert. Die Kerne zeigten ein dichtes streifiges Chromatinmuster (Abbildung 2). Bei einigen dieser Zellen meinte man, einen eosinophilen Flimmersaum an der dem Kern gegenüberliegenden Seite zu ahnen. Neben dieser Zellart fanden sich aber auch einzelne mehr polygonale, eosinophile Zellen mit einem annähernd mittelständigen, mehr vesikulären und durchscheinenden Kern. Diese Zellen waren deutlich kleiner als Speicheldrüsenzellen, und das Kernplasmaverhältnis lag bei etwa 1 : 5. Im übrigen

finden sich zahlreiche nackte Kerne mit spindelartiger Gestalt, von deren spitzen Enden fadenartige, zyanophile Ausläufer hervorzugehen schießen (Abbildung 2). In der Papanicolaou-Färbung erschien der Schleim zum Teil eosinophil, zum Teil zyanophil.

3. Vaginalzellen

Bei der Untersuchung von Notzuchtverbrechen hat der Nachweis von Vaginalzellen an der Kleidung des Täters manchmal entscheidende Bedeutung. Da von einer verdächtigen Spur oft behauptet wird, es handle sich um Speichel oder ähnliches, muß eine Spur meistens mehrfach untersucht werden. MERKEL wies Vaginalzellen durch die sepia- oder schokoladenbraune Anfärbung des zytoplasmatischen Glykogens mit Lugol'scher Lösung nach. Wenn bei positivem Ausfall die Färbung auf Zusatz von Speichel verschwindet, hält er dies für beweisend. Für die Entfärbung ist die Spaltung des Glykogens durch die Speichelamylase verantwortlich. Nach MERKELs Angaben findet sich im Speichel kaum Glykogen. Kein Glykogen finde sich im Nasenschleim, im Urin, am Präputium, an der Glans penis, in der Harnröhre, im Prostatasekret und im Spermaejakulat.

Wie RADAM mitteilt, besteht eine besonders große Verwechslungsmöglichkeit der Vaginalzellen gerade mit Speichelnzellen. Es empfiehlt sich daher zusätzlich der Speichelamylasenachweis nach MUELLER. Scheidenepithelien sind ja bekanntlich keineswegs immer glykogenhaltig. Glykogen findet sich praktisch ausschließlich in den Oberflächenzellen der Vagina. Hierauf beruht die Schiller'sche Jodprobe der Gynäkologen.

Es ist daher möglich, daß der Glykogennachweis nach MERKEL negativ ist, obwohl Vaginalzellen vorliegen. Auch der Nachweis von Menstrualblut nach SQUILLACI durch lugolpositive Vaginalzellen in der Blutspur ist aus den gleichen Gründen nicht ganz beweisend, da bei negativem Ausfall dennoch Menstrualblut vorliegen kann. Im übrigen wird diese Probe bei Anwesenheit von Leberzellen in der Blutspur ebenfalls positiv ausfallen, da bekanntlich Leberzellen besonders reichlich Glykogen enthalten. BERG identifiziert Vaginalsekret durch den Nachweis des Laktobacterium acidophilum Doederlein auf Grund der besonderen Kolonieforn in Reinkultur. Dieses Bacterium ist aber nur im eubioten Scheidenmilieu vorhanden. Bei dem Scheidenreinheitsgrad IV ist ja nach Definition das Laktobacterium acidophilum Doederlein von andern Keimen verdrängt bzw. überwuchert. Daher ist diese Methode nur bei positivem Ausfall brauchbar.

Die histologische Untersuchung und Unterscheidung von Vaginal- und Speichelzellen für forensische Zwecke wurde wohl erstmals von HUNT versucht. Er untersuchte beide Zellarten in Stundenabständen nach der Entnahme und unter verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen. Er fand kaum Änderungen der Zytoplasmafärbung während der ersten 24 Stunden. Es war auch bedeutungslos, ob die Zellen bei 98 % Luftfeuchtigkeit oder Zimmerluftfeuchtigkeit aufbewahrt wurden. An den Kernen fand er Schwellung und Unschärfe des Chromatinmusters. Die Kerne vergrößerten sich während der ersten 4 Stunden sehr rasch und wurden dann langsam wieder kleiner. Er konnte so die bis dahin umstrittene Behauptung von FERREIRA und SABBAC bestätigen, daß lufttrockene Präparate am besten nach 24 Stunden fixiert werden (HUNT). BOQUOI und CORDOVA

bezeichnen dagegen gynäkologische Abstriche, die vor der Fixation an der Luft getrocknet wurden, als unbrauchbar. Eine Begründung geben diese Autoren nicht. Bei forensischen Untersuchungen wird es sich aber meistens um eingetrocknete Spuren handeln. Es ist jedoch hier auch keine so weitgehende Differenzierung wie in der gynäkologischen Zytologie erforderlich.

Vaginalsekret enthält nicht nur Vaginalepithelien, also ein nichtverhornendes Plattenepithel, sondern auch schleimbildende Cervixzellen, Zellen des Endometriums und Flimmerepithelien der Cervix sowie manchmal der Tube. Daneben enthält es Mikroorganismen, Histiozyten, Leukozyten und Erythrozyten. Die Zellen werden in Abhängigkeit von der Östrogen- und Gestagenausschüttung abgeschilfert. Der Gynäkologe entnimmt die Abstriche gezielt von der Portio, der Endocervix und dem seitlichen Scheidengewölbe. In der Spurenkunde dagegen wird es sich fast immer um Zellen dieser drei Lokalisationen gleichzeitig handeln, sozusagen um eine Art "Spontanvaginalsekret", welches sich im hinteren Scheidengewölbe angesammelt hat und dort zum Teil der Autolyse unterliegt. Den Hauptanteil machen die Zellen der Vaginalwand selbst aus. Die Vaginalwand nimmt mit 3 ihrer 4 Zellschichten an den Abschilferungsvorgängen teil: den Oberflächenzellen, den Intermediärzellen und den Parabasalzellen. Die Oberflächenzellen sind große, polygonale, meistens eosinophile Zellen mit durchscheinendem Zytoplasma und kleinem, pyknotisch erscheinendem Kern. Intermediärzellen sind ähnlich in Form und Größe, nur sind sie meistens zyanophil. Sie haben größere, runde oder ovale Kerne, die als vesikulär beschrieben werden. Das Chromatin ist hier in zarten Streifen oder Körnchen angeordnet. Das Kernplasmaver-

hältnis beträgt bei den Oberflächenzellen etwa 1 : 16, bei den Intermediärzellen etwa 1 : 12. Parabasalzellen sind kleiner, mit glatten, runden oder ovalen Zellgrenzen. Die Kerne sind in Form und Struktur ähnlich wie die der Intermediärzellen. Das Kernplasmaverhältnis beträgt etwa 1 : 3,5. Das Zytoplasma der Parabasalzellen ist aber dichter als das der beiden anderen Zellarten. Es ist zyanophil, kann aber auch bei der von Zytologen fast ausschließlich verwendeten Papanicolaou-Färbung dunkel-purpurn oder orangerosa gefärbt sein. Die Basalzellschicht nimmt nicht an den Abschilferungsvorgängen teil. Es gibt auch normale Varianten der obenbeschriebenen 3 Vaginalzelltypen, die aber meistens die Parabasalzellen betreffen. Sie können dreieckig, fusiform oder schiffchenförmig sein.

Die Zellen der Portiooberfläche sind ähnlich denen der Vaginalwand. Die Endozervikalzellen sind langgestreckte Zylinderzellen mit ovalem oder gestrecktem Kern, der sich an einem Ende der Zelle findet. Das Zytoplasma ist meistens zyanophil und dünn, wodurch die Zellgrenzen etwas unscharf aussehen. Sie kommen manchmal in Verbänden vor und erscheinen dann von der Seite gesehen palisadenartig aneinandergelagert. Von der Schmalseite her erscheinen die Zellen kleiner und rundlich mit einem exzentrischen Kern. Die Zellgrenzen sind dann deutlich schärfer. Manchmal findet man auch Flimmerepithelien mit relativ großen ovalen Kernen, zyanophilem Zytoplasma und eosinophilem Flimmersaum an der dem Kern gegenüberliegenden Seite. Die Endometriumzellen sind klein mit relativ großem Kern und schmalem zyanophilem Zytoplasmasaum. Häufig treten sie in bienenwabenartigen Verbänden auf. Sie haben die Neigung zum Kernverlust, wodurch Nacktkernigkeit entsteht. Von der

Seite erscheinen sie als niedrige Flimmerepithelzellen (BOQUOI und CORDOVA, LIU, PAPANICOLAOU).

Es wurde versucht, die Zusammensetzung der Vaginalflüssigkeit im hinteren Scheidengewölbe als Herkunftsortes der häufigsten Spuren zu bestimmen. Es sollte versucht werden, ein Unterscheidungskriterium gegenüber anderen Schleimhautzellen zu finden, da die bisher beschriebenen Methoden, wie oben erörtert, nicht befriedigend waren. Weiter sollte die Haltbarkeit und Färbbarkeit von eingetrockneten Spuren untersucht werden. Die Ergebnisse könnten eine Möglichkeit eröffnen, auf Grund der aus gynäkologischen Abstrichen bekannten Zellbilder der verschiedenen Phasen des Ovulationszyklus, den ungefähren Zeitpunkt der Entstehung einer Spur zu bestimmen.

a) Vaginalabstriche

Es wurde bei 12 Leichen mit einem Holzspatel jeweils einmal leicht durch das hintere Scheidengewölbe gestrichen. Auf die gynäkologisch übliche Speculumeinstellung wurde bewußt verzichtet, um auch die vorderen Abschnitte der Vagina und des Introitus beim Eingehen mit dem Holzspatel ebenfalls zu berühren. Hier wird möglicherweise weiteres Material zu dem Vaginalsekret dazukommen, z.B. bei Notzuchtverbrechen.

Das auf der Spatelspitze befindliche Material wurde auf einen Objektträger an der Schmalseite aufgetupft und dann mit einem anderen Objektträger, ähnlich wie bei einem Blutausrich, ausgestrichen. Die Präparate wurden dann bei Zimmertemperatur getrocknet. Von jedem Spatel

wurden 2 Objektträger beschickt, 8 Präparate wurden nach Papanicolaou mit Polychrom 3a, 4 mit Hämatoxylin-Eosin, 5 mit Kresylechtviolett, 2 mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich-Scharlach, 2 nach Pappenheim-Unna, 2 mit Peroxydase-Lepehne und Giemsa und ein Präparat mit Peroxydase Graham-Knoll und Giemsa gefärbt. Das Alter der Leichen lag zwischen 19 und 57 Lebensjahren.

In sämtlichen Präparaten fanden sich sehr zahlreiche, zum Teil im Verband liegende Zellen der verschiedenen oben angeführten Typen (Abbildung 3). Die Zellzahl je Präparat lag im Durchschnitt über 1 000. (HUNT gibt eine Zellzahl von 50 000 bis 200 000 je 0,1 ml Vaginalschleim an). Die Färbungen gelangen nur unterschiedlich. Die Peroxydase-reaktionen, die nur zum Vergleich mit anderen Körperzellen gemacht wurden, ergaben nur unscharf gefärbte Kerne und ein praktisch ungefärbtes Zytoplasma. Sie sind daher kaum geeignet. Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach sowie die Hämatoxylin- und die Pappenheim-Färbung ergaben differenzierte Bilder, auch wenn das Zytoplasma zum Teil nur zart angefärbt war. Die bei weitem beste Färbung, was Klarheit und Intensität angeht, zeigte die Papanicolaou-Färbung, besonders wegen der unterschiedlichen Anfärbung der Oberflächen- und Intermediärzellen. Auch die Kresylechtviolett-Färbung, die die Kerne dunkelviolet und das Zytoplasma hellviolett anfärbt, ergab klare und differenzierte Bilder.

Neben den Vaginalzellen fanden sich in 5 Präparaten Erythrozyten und Leukozyten. In fast allen Präparaten waren Mikroorganismen nachweisbar. Wenn diese besonders zahlreich waren, wurden häufiger Zellen mit einer wie "ausgefranst" Zellgrenze gesehen. Das Zytoplasma zeig-

te dann meistens auch zahlreiche kleine Vakuolen und eine dichter erscheinende Struktur. Es handelte sich hier offensichtlich um bakterielle Zytolyse. In den Einzelpräparaten waren die Vaginalepithelien der verschiedenen Schichten stets weit überwiegend. Zylinderepithelien der Endocervix und Endometriumzellen waren nur selten vertreten.

Da sich das Verhältnis von Oberflächen- zu den Intermediär- und Parabasalzellen in den Präparaten der verschiedenen Fälle deutlich unterschied, wurde versucht, den Zyklustermin der einzelnen Frauen zu bestimmen. Der gynäkologische Zytologe verlangt zu einer Zyklusdiagnostik erstens einen Abstrich vom vorderen seitlichen Scheidengewölbe und zweitens eine komplette Zyklusanamnese sowie Angaben über eine eventuelle hormonelle Vorbehandlung. Wie auch BOQUOI und CORDOVA sagen, bestehen besonders bei hormoneller Vorbehandlung vielfältige Irrtumsmöglichkeiten. Es wird bei forensischen Untersuchungen von Vaginalschleim also nie möglich sein, einen als Beweis verwertbaren Befund zu erhalten. Immerhin kann man aber wohl einen gewissen Anhalt über die Zyklusphase der Frau erwarten, von welcher der Vaginalschleim stammt. Unter dem Einfluß von Östrogenen proliferiert das Vaginalepithel von der Parabasalzellschicht bis zur Oberflächenzellschicht (BOQUOI und CORDOVA). Gestagene und Androgene bewirken nur die Proliferation bis zur Intermediärzellschicht. Entsprechend der Ausschüttung dieser Hormone kommt es zu bestimmten Zellbildern. In der frühen Follikelphase finden sich vorwiegend zyanophile große und kleine Intermediär- und wenige eosinophile Oberflächenzellen. In der mittleren Follikelphase finden sich zyanophile Intermediär- und eosinophile Oberflächenzellen etwa zu gleichen Teilen. Etwa um die Zeit des Follikelsprunges liegen fast aus -

schließlich eosinophile Superfizialzellen mit kleinen pyknotischen Kernen vor. In der Postovulationsphase zeigen sich überwiegend große Intermediärzellen mit vesikulären Kernen und gefaltetem, zyanophilem Zytoplasma. Sie zeigen typische Haufenbildung. Daneben sieht man vereinzelte, eosinophile Oberflächenzellen mit pyknotischen Kernen (BOQUOI und CORDOVA, LIU).

An Hand dieser Beschreibung wird deutlich, daß schon unter normalen Entnahmebedingungen die Unterscheidung zwischen der frühen Follikelphase und der Postovulationsphase größere Schwierigkeiten machen kann. Man wird sich daher darauf beschränken müssen, lediglich die relativ klar voneinander zu trennenden Zellbilder der mittleren Follikelphase - mit gleichen Teilen eosinophiler Oberflächen - und zyanophilen Intermediärzellen - und die Zellbilder des Follikelsprunges - mit praktisch ausschließlich eosinophilen Oberflächenzellen mit pyknotischen Kernen - überhaupt zur Zyklusdiagnostik an Spuren heranzuziehen. Alle anderen Zellbilder der Zyklusdiagnostik zeigen zu geringe Unterscheidungsmerkmale, um sie bei forensischen Untersuchungen verwerten zu können. Aber selbst, wenn man das klare Bild der mittleren Follikelphase an einer Spur feststellen würde, könnte man kein Datum der Spurentstehung angeben, sondern nur einen Zeitraum von mehreren Tagen. Auch die Angabe eines Entstehungszeitraumes ist recht ungenau, da selbst bei der gleichen Frau keineswegs jeder Zyklus in gleichen Abschnitten verläuft. Dennoch ist eine solche Zuordnung der Vaginalzellbilder nicht unbedingt immer willkürlich. Wenn z.B. auf der Kleidung eines der Notzucht Verdächtigen Vaginalzellen der späten Follikelphase oder des Follikelsprunges, also ausschließlich eosinophile, ausgebreitete Superfizialzellen mit pyknotischen

Kernen nachgewiesen würden, und die Vergewaltigte zur Tatzeit in dieser Phase ihres Zyklus gewesen wäre, könnte dem Täter nachgewiesen werden, daß die Zellen tatsächlich von dieser Frau stammen können. Voraussetzung ist hierfür natürlich eine eingehende gynäkologische Untersuchung mit Regelanamnese und zytologischen Abstrichen. Ein Beweis kann naturgemäß hierdurch nicht erbracht werden, nur ein weiteres Verdachtsmoment.

In den Vaginalschleimabstrichen der untersuchten Leichen fanden sich Zellbilder, die in 4 Fällen die Diagnose "frühe Follikelphase", in 3 Fällen "mittlere Follikelphase", in einem Fall "Ovulationsphase" und in 2 Fällen "Postovulationsphase bzw. Lutealphase" nahelegten. In 2 der Ausstriche fanden sich ausschließlich Parabasalzellen sowie deren fusiforme und lanzettartigen Varianten. Die eine dieser Frauen war 57 und die andere 52 Jahre alt. Beide waren in der Menopause.

Vier der wie oben beschrieben entnommenen Präparate wurden unfixiert 15 Tage lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt, dann mit Äther-Alkohol fixiert und mit Kresylechtviolett gefärbt. Es fand sich, abgesehen von mäßiger Unschärfe der Kern- und Zellgrenzen, kein wesentlicher Unterschied im histologischen Bild. Die Zellen waren gering stärker im Zytoplasma angefärbt. Diese nur orientierende Untersuchung der Haltbarkeit berechtigt natürlich nicht zu verbindlichen Aussagen über die allgemeine Haltbarkeit von Vaginalsekretspuren, insbesondere da bakterielle Zytolyse gerade im Scheidensekret fast stets zu erwarten ist.

b) Kasuistik: Befunde in einer Notzuchtsache

Bei einem Einbruch in eine Villa geriet der Täter zufällig in das Zimmer, wo das 17jährige Dienstmädchen schlief. Unter ständiger Bedrohung mit einem Messer wurde das Mädchen zum Beischlaf gezwungen. Bald darauf wurde der Täter gefaßt. Er gab zu, das Mädchen mit dem Messer bedroht zu haben, aber nur, damit es ihn nicht durch sein Schreien verrate. Zur Kohabitation sei es aber nicht gekommen. Auf dem asservierten Nachthemd des Mädchens fanden sich ein dicker, krustenartiger Fleck an der Vorderseite, etwa 25 cm oberhalb des Saumes, und zwei weitere dünne Flecken in der unmittelbaren Nähe des Saumes.

Der dicke Fleck wurde mit einem Skalpell über einem Objektträger abgekratzt; die Schüppchen wurden mit 0,9 %iger Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Nach Lufttrocknen wurde nach Papanicolaou mit Polychrom 3a gefärbt. Es fanden sich reichlich Intermediärzellen und Oberflächenzellen etwa im Verhältnis 1 : 1, also ein Zellbild der mittleren Follikelphase, aber keine Spermien (Abbildung 4).

Aus einem der dünnen Flecke in Saumnähe wurde ein etwa $0,5 \text{ cm}^2$ großes Stückchen ausgeschnitten und mit 0,5 ml 0,9 %iger Kochsalzlösung in einem Uhrglas übergossen. Der Stoff wurde in der Lösung zerzupft; die Stoffasern wurden nach 15 Min aus der Lösung entfernt. Die Lösung wurde dann auf 5 Objektträger aufgetropft und nach dem Lufttrocknen für 10 Min mit Äther-Alkohol fixiert. Drei Präparate wurden mit Kresylechtviolett und 2 nach Papanicolaou gefärbt. In 4 der 5 Präparate fanden sich eindeutig Spermien neben Vaginalzellen. Die Vaginalzellen zeigten aber bei diesem Fleck das typische Bild der späten Follikelphase bzw. des

Follikelsprunges. Das heißt, es fanden sich im Gegensatz zu dem ersten Präparat aus dem dicken Fleck nur eosinophile Oberflächenzellen mit pyknotischen Kernen (Abbildung 5). Der dicke Fleck war also offensichtlich vor dem Zeitpunkt der Vergewaltigung entstanden und konnte daher auch keine Spermien enthalten. Auf Grund der Vermengung von Vaginalzellen mit Spermien konnte angenommen werden, daß eine Immissio penis stattgefunden hatte. Spermien stellen sich in der Papanicolaou-Färbung blau dar. Der Kopf ist an der Spitze blaßblau und am Halsteil und Chromatin dunkelblau gefärbt. In der Kresylechtviolettgefärbung sind Chromatin und Hals dunkelviolett und die Spitze hellviolett gefärbt.

4. Glans Penis

Die Glans ist ebenfalls von nichtverhornendem Plattenepithel überzogen. Es erschien daher theoretisch möglich, die Epithelien der Glans penis mit denen der Vagina zu verwechseln. Diese Verwechslungsmöglichkeit wäre natürlich von großer Bedeutung gewesen. Im übrigen bot sich hier eine Möglichkeit, gleichzeitig die Färbbarkeit von Spermien mit den angewandten Färbemethoden zu untersuchen. Denn nach MANT finden sich in der Urethra von männlichen Leichen in 75 % der Fälle Spermien. Besonders wenn eine agonale Anoxämie bestanden hatte, fand MANT fast immer Spermien, auch bei fortgeschrittener Fäulnis und nach langem Liegen der Leichen in Wasser.

Es wurde mit der Fläche eines Objektträgers bei zurückgeschobenem Präputium über die Glans penis von Leichen gewischt. Die Objektträger

wurden dann an der Luft getrocknet. So wurden von 15 Leichen, mit zum Teil natürlicher Todesursache und zum Teil durch Unfall verursachtem Tod, insgesamt 25 Präparate gewonnen. Davon wurden 6 mit Hämatoxylin-Eosin, 6 nach Papanicolaou mit Polychrom 3a, 6 mit Kresylechtviolett und 6 mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach gefärbt. Ein Präparat wurde nach Baecchi gefärbt.

In 9 der Präparate waren überhaupt keine Zellen, sondern nur vereinzelte Farbstoffschlieren vorhanden. Da dies bei Präparaten aller Färbungen der Fall war, wurde daraus geschlossen, daß die Ursache nicht in der Färbung, sondern der Unergiebigkeit der Entnahme von der Glans penis lag. In der Tat waren auch in den anderen Präparaten nur relativ wenige Zellen nachweisbar. Spermien waren dagegen, wenn überhaupt, sehr zahlreich nachweisbar. In 10 der Präparate waren Spermien nachweisbar, zum Teil so zahlreich, daß sie das übrige Zellbild kaum erkennen ließen. Daneben fanden sich in 6 Präparaten zahlreiche Zellen des peripheren Blutes wie Erythrozyten und Leukozyten sowie vereinzelte Plasmazellen.

Bei den Zellen, die als eigentliche Zellen der Glans penis angesehen wurden, zeigten sich 4 Typen. Am häufigsten, je Präparat im Durchschnitt 38, waren kernlose polygonale, große Zellen mit dünnem eosinophilem Zytoplasma, welches zum Teil gefaltet erschien. Diese kernlosen Zellen lagen zum Teil in Verbänden von bis zu 6. Die zweite Gruppe bildeten ebensolche Zellen mit einem großen ovalen, zart angefärbtem Kern mit feiner Chromatintüpfelung. Das Zytoplasma dieser Zellen erschien schwächer eosinophil, die Zellgrenzen waren aber ebenfalls scharf. Die dritte Zelltype bestand aus relativ großen kräftiger angefärbten Ker-

nen mit dichterem, zum Teil streifigem Chromatinmuster und einem schmalen Zytoplasmasaum. Die Kerne waren zum Teil rund bis oval, zum Teil aber auch mehr gestreckt. Der vierte Zelltyp war schließlich rundlich mit unscharfen Zellgrenzen, durchscheinendem eosinophilem Zytoplasma und rundlichen Kernen, die fast identisch wie die der Gruppe 2 in Form und Struktur erschienen (Abbildung 6). Von der zweiten Zellform fanden sich im Durchschnitt 24 je Präparat, von der dritten je 8,5 und von der vierten je 11 pro Präparat. In einem Präparat fanden sich 23 Zellen vom Typ 3 in einem Verband. Auch in den nach Papanicolaou gefärbten Präparaten waren keine Zellen mit zyanophilem Zytoplasma nachweisbar. Im übrigen fanden sich noch zahlreiche nackte Kerne, die zum Teil auch aus Kernfragmenten zusammengesetzt erschienen.

Die Spermien färbten sich mit allen 4 Färbungen gleich gut an. Mit Hämatoxylin waren Chromatin und Schwanz blau, das Zytoplasma rosa. Mit Papanicolaou Chromatin und Schwanz dunkelblau und die Spitze zartblau. Mit Kresylechtviolett waren Chromatin und Schwanz dunkelviolett und die Spitze hellviolett bis rosa gefärbt. Das nach Baccchi gefärbte Präparat, welches Spermafrei war, enthielt kräftig rote kernlose, polygonale Zellen. Ganz vereinzelt fand sich eine fünfte Zelltype mit blaugrünem rundlichem Zelleib und exzentrischem runden Kern in der Papanicolaou-Färbung.

5. Vergleich der verschiedenen Schleimhautzellen

In ihrer Färbbarkeit unterscheiden sich die vier untersuchten Schleimhautzellarten kaum wesentlich. Sie färben sich bei gleichen Färbezeiten mit den verschiedenen Methoden alle ungefähr gleich stark an. Von ihrer Zellgestalt her könnten Speichel- und Vaginalzellen noch am ehesten verwechselt werden. Beide Zellen sind polygonal, wenn man Oberflächen- und Intermediärzellen der Vagina und abgekratzte Mundschleimhautepithelien miteinander vergleicht. Das Zytoplasma der Speichelzellen kann ebenfalls zyanophil sein wie das der Intermediärzellen. Auch das Kern-Plasmaverhältnis ist ähnlich. Selbst die Kerne sind auf den ersten Blick ähnlich. Hier findet sich aber bei näherer Betrachtung doch ein Unterschied. Die Kerne der Speichelzellen sind mehr homogen angefärbt und zeigen kaum eine ausgesprochene Chromatinstruktur. Die Oberflächenzellen der Vagina unterscheiden sich von ihnen durch ihren dichteren, stärker angefärbten, pyknotisch erscheinenden Kern. Der Kern der Intermediärzelle des Vaginalsekrets ist in seinem Chromatinmuster mehr gepunktet. Dieser Unterschied ist aber nicht so deutlich wie die dichtere, fast kreisartige Kerngrenze. Dieser feine Unterschied kann mit einiger Übung leicht erkannt werden. Wenn dem Vaginalsekret Parabasalzellen, Endocervixzellen oder sogar Endometriumzellen beigemischt sind, wird die Differenzierung kaum Schwierigkeiten bereiten.

Die Zellen des Nasenschleims können mit den Flimmerepithelien der Endocervix verwechselt werden. Die kleineren polygonalen Zellen des Nasenschleims haben mit ihrem vesikulären Kern und bei ihrer geringeren Größe höchstens ein Pendant in den Parabasalzellen. Diese haben

aber einen deutlich dichteren Kern mit streifigem oder körnigem Chromatinmuster. Hierdurch sind sie unschwer von Nasenschleimzellen ähnlicher Form zu trennen.

Die Zellen der Glans penis unterscheiden sich von Speichel- und Vaginalzellen, wenn es sich um den Typ 2 und 4 handelt, durch ihren relativ größeren Kern. Auch das Zytoplasma ist meistens schwächer angefärbt und erscheint dünner. Dieser Unterschied ist aber nicht so eindeutig. Der dritte Zelltyp der Peniszellen kann unter Umständen mit Endometriumzellen verwechselt werden. Hier besteht wirklich sehr starke Ähnlichkeit. Auch der seltenere fünfte Zelltyp kann mit Flimmerzellen der Cervix und des Nasenschleims verwechselt werden, aber nur bei oberflächlicher Betrachtung, denn der Zelleib ist rundlich und nicht so gestreckt, fast rechteckig, wie der der Flimmerzellen. Die kernlosen eosinophilen Zellen des ersten Typs können von den (jedoch relativ seltenen) kernlosen Speichel- und den Superfizialzellen der Vagina kaum unterschieden werden.

Nach den obenbeschriebenen Kriterien lassen sich die verschiedenen Schleimhautzellen wohl meistens identifizieren, insbesondere, wenn man die Papanicolaou-Färbung mit ihrer Mehrfarbigkeit anwendet. Es erscheint aber fraglich, ob dies auch unter den Bedingungen der Spurenkunde mit ihren zahlreichen Veränderungen der Spuren durch Feuchtigkeit, Temperatureinflüsse, Austrocknung und Rehydratation immer möglich ist.

6. Optimale Darstellungsverfahren der Schleimhautzellen

Die Aufbereitung von Schleimhautzellspuren richtet sich natürlich im wesentlichen nach dem Spurenträger. Bei dieser Spurenart werden meistens flexible Spurenträger, also z.B. Textilien, Leder oder ähnliches vorliegen. Hierbei empfiehlt es sich, dicke krustenartige Spuren erst über Objektträgern abzukratzen und mit 0,9 %iger Kochsalzlösung aufzuschwemmen. Der so behandelte Spurenträger wird ebenso wie die dünne Spur dann noch mit 0,9 %iger NaCl-Lösung ausgewaschen. Falls die Waschflüssigkeit trübe erscheint, ist Zentrifugieren etwa bei 3 500 U/min angezeigt. Der Überstand wird dann etwa zur Hälfte abgesaugt und mit dem Rest das Sediment wieder aufgeschüttelt. Aufschwemmen mit "Standardserum", wie UNDRITZ und HEGG es empfehlen, bringt keine wesentlichen Vorteile gegenüber der NaCl-Lösung. Was UNDRITZ und HEGG unter "Standardserum" verstehen, wird nicht gesagt. Vielleicht ist defibrinogeniertes Humanplasma gemeint? In diesen Untersuchungen wurde eine Mischung von gleichen Teilen A- und B-Serum der Behringwerke Marburg verwendet.

NaCl-Lösung hat nur den unbedeutenden Nachteil, daß durch das Eintrocknen manchmal Salzkristalle auf den Objektträgern entstehen. Diese Kristalle lösen sich aber beim Färbevorgang im allgemeinen wieder auf. Falls starre Spurenträger, z.B. Messer, Holz und Ähnliches vorliegen, wird im allgemeinen Abschaben der Spur zum Ziel führen. Aber auch das Abwaschen über einem Uhrglas mit 0,9 % NaCl-Lösung kann noch positive Ergebnisse bringen.

Von den Färbemethoden erscheint die Papanicolaou-Färbung allen übrigen hier geprüften überlegen. Sie liefert klare, differenzierte Bilder und

zeigt durch ihre Polychromie noch einige Möglichkeiten der Zelltypisierung. Alle untersuchten Schleimhautzellen färben sich gleich gut an. Die Kresylechtviolett-färbung liefert gut durchdifferenzierte Bilder mit besonders deutlichen Kernstrukturen auch bei älteren Spuren. Sie erscheint besonders brauchbar, wenn Kernanhängsel gesucht werden, und wenn größere Spuren Mengen nach einem zellulären Bestandteil durchsucht werden müssen. Diese Färbung dauert mit Fixation in Äther-Alkohol insgesamt nur etwa 15 Min. Die Präparate brauchen ebenso wie bei der Papanicolaou-Färbung vor der Fixation nicht völlig getrocknet zu sein.

Die klassische Hämatoxylin-Eosinfärbung ist weniger geeignet, da das doch oft stark vorgeschädigte Spurenmaterial häufig Schwierigkeiten bei der Färbung bereiten dürfte. Insbesondere die Zytoplasmafärbung gelingt von Fall zu Fall anders, ohne daß sich vorhersagen läßt, welche Färbezeiten angebracht sind. Schwache Anfärbung oder Überfärbung können bei gleichem Zellalter auftreten. Auch die Kerne sind oft nicht ausreichend differenziert dargestellt. Diese Schwierigkeiten treten besonders häufig bei Speichelzellen auf. Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scarlet zeigen hier bessere Ergebnisse. Die Präparate der verschiedenen Zellen sind etwa gleich gut angefärbt, nur sind sie nicht ganz so klar differenziert wie mit der Papanicolaou-Färbung.

Die Methylenblaufärbung ist nur als Suchprobe verwendbar. Sie ist nicht sehr klar und blaßt rasch aus. Die Pappenheim-Unna-Färbung ist brauchbar für grobe Zuordnung der Schleimhautzellen, wenn sie in Blutspuren vorliegen, und die Blutspuren wichtiger für den speziellen Fall erscheinen.

Wenn Schleimhautzellen erwartet werden, empfiehlt es sich, die Spuren, wie oben angeführt, je nach Spurenträger auf Objektträger mit 0,9%iger NaCl-Lösung aufzuschwemmen und sie noch leicht feucht mit Äther-Alkohol zu fixieren. Liegen größere Spurenmengen vor, so kann Kresylechtviolett oder die Papanicolaou-Färbung angewandt werden. Bei kleineren Spuren wird die Papanicolaou-Färbung allein die umfassendste Aussage ermöglichen.

Die Peroxydasefärbungen nach Lepehne und Graham-Knoll, die ja auch nur zum Vergleich angewandt wurden, erscheinen ungeeignet.

C. Epidermiszellen

a) Kasuistik und Literatur

In dem im Kapitel "Organzellen" näher beschriebenen Fall (s.u.) wurde von UNDRITZ und HEGG behauptet, es handle sich bei den an der fraglichen Mordwaffe gefundenen, einzelnliegenden Zellen "de cellules indubitablement de foie". Es wurde nun von der Verteidigung angefragt, ob es nicht möglich sei, daß es sich bei den gefundenen Zellen um Zellen aus der Daumenhaut des inzwischen Verurteilten J. handle. Dieser habe mit dem als Mordwaffe bezeichneten Dolch kurze Zeit vor dem Mord eine größere Verletzung am Daumen erlitten. Dieser Einwand erscheint fast absurd, aber nur dann, wenn man vom morphologischen Bild eines Zellverbandes ausgeht. Es handelte sich jedoch in dem obenbeschriebenen Fall um Einzelzellen!

KOCKEL, REUTER, SIMONIN und ZERNDT und SIMON haben zwar ebenfalls Oberhautzellen für forensische Zwecke untersucht, aber es waren immer größere Zellverbände. Diese wurden nach Zelloidineinbettung im histologischen Schnitt untersucht oder wie in dem von ZERNDT und SIMON berichteten Fall ungefärbt durch Makrophotographie identifiziert. Bei der Untersuchung von Zellverbänden wird die Entscheidung, daß es sich um Oberhautzellen handelt, also im wesentlichen um verhornendes Plattenepithel, vielleicht sogar mit Haarbälgen und Talgdrüsen, selbst dem Ungeübten kaum Schwierigkeiten bereiten.

Abgestoßene Hautschuppen, welche meistens aus einem größeren Zellverband von kernlosen verhornten Zellen bestehen, finden sich aber fast

überall in Kleidungsstücken oder im Fingernagelschmutz. Sie sind daher im allgemeinen als Spur nicht beweisend. Es muß sich vielmehr um einen Verband kernhaltiger Zellen handeln, wie er z.B. beim energischen Kratzen entsteht. Um nun im Fingernagelschmutz gefundene Hautschuppen, die dadurch entstanden sind, daß sich der Spurenräger selbst gekratzt hat, von solchen zu unterscheiden, welche von der Haut eines anderen Menschen stammen, gibt SIMONIN folgende Unterscheidungsmöglichkeit an: Wenn den Hautschuppen Blutkörperchen beigemischt sind, soll es sich um Hautschuppen anderer Individuen handeln. Er forderte nämlich mehrere Versuchspersonen auf, sich "bis aufs Blut zu kratzen". In ihrem Fingernagelschmutz fand er ebensowenig wie in dem von Patienten mit pruriginösen Ekzemen Blutbeimengungen. Er schloß daraus, daß Blutbeimengungen im Fingernagelschmutz nur beim Kratzen durch eine zweite Person entstehen können. YOSHIDA behauptet sogar, es sei ihm gelungen, auch in Oberhautfetzen konstant gruppenspezifische Isohämagglutinine und Heteroagglutinine nachzuweisen, welche gleich denen im Serum gewesen seien. Die beiden zuletzt angeführten Unterscheidungsmöglichkeiten bedürfen sicherlich noch einer kritischen Nachprüfung, welche aber den Rahmen unserer Untersuchungen gesprengt hätte.

Da für die oben aufgezeigte Fragestellung nicht alle angeführten Verfahren anwendbar waren, wurde in Versuchen mit Leichenhaut nach Nachweismethoden und Unterscheidungskriterien von Einzelzellen gesucht.

b) Eigene Untersuchungen

1. Versuche an abgeschabter Leichenhaut

Es sollte die Behauptung von SIMONIN nachgeprüft werden, daß sich nur in Hautschuppen, die von einem anderen Menschen stammen, Blutbeimengungen finden. Außerdem sollten diese Untersuchungen über die Färbbarkeit von Leichenhaut mit verschiedenen Methoden orientieren. Wir waren uns hierbei bewußt, daß eine schlüssige Aussage aus der geringen Zahl von 4 Versuchen nicht abgeleitet werden kann. Auch das verschiedene Verhalten von Leichenhaut und lebender Haut verfälscht sicher das Bild, besonders im Hinblick auf die Untersuchungen SIMONINs, wegen dem Fehlen des Blutdruckes bei der Provokation der Blutung.

Bei einem 12 Stunden vorher an mehreren Herzstichen Verstorbenen wurde mit der Schneide eines senkrecht zur Hautoberfläche gestellten Sektionsmessers die Haut an der Außenseite des rechten Oberarmes unter mäßigem Druck abgeschabt. Es lösten sich dabei größere Hautfetzen, welche sich sofort zusammenrollten und verworfen wurden. Es wurde weitergeschabt, bis feine Blutpunkte auftraten, als Zeichen dafür, daß die Papillen der Subkutis beschädigt waren. Es konnte also angenommen werden, daß Zellen aller Epidermisschichten auf der Messerklinge vorhanden waren.

Das Messer wurde sofort in einem großen Uhrglas mit 2 ml einer 0,9 %igen NaCl-Lösung befeuchtet. Mit einem feinen Präparierskalpell wurde die Klinge unter wiederholtem Anfeuchten abgeschabt. Die Gewebsschüppchen, die mit bloßem Auge eben noch sichtbar waren, fielen

dabei in die Lösung. Die Lösung wurde nach Umschütten in ein konisch zulaufendes Zentrifugenröhrchen bei 3200 U./min 10 min lang zentrifugiert. Der Überstand wurde mit einer Haarpipette bis auf 0,5 ml abgesaugt. Nach Aufschütteln des Sediments wurde die Lösung mit einer frischen Haarpipette auf 6 in Alkohol gut entfettete Objektträger aufgetropft, so daß ein jeweils etwa linsengroßer Tropfen auf den Objektträgern entstand. Diese Tropfen wurden dann mit einem Deckglas wie ein Blutausstrich ausgestrichen. Nach Lufttrocknen, was bei 20⁰ C Raumtemperatur etwa 1 Stunde in Anspruch nahm, wurden 4 Präparate in Äther-Alkohol (Gemisch aus gleichen Teilen 95 %igem Alkohol und Diäthyläther) 15 min lang fixiert. Diese Präparate wurden nach Papanicolaou mit Polychrom 3a gefärbt. Ein Präparat wurde mit Methanol 10 min fixiert und mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach gefärbt. Das letzte Präparat wurde schließlich auf der Färbebrücke 25 sec mit einem Gemisch aus 10 Teilen Formalin 40 %ig und 90 Teilen Äthanol 96 %ig fixiert und nach Abspülen mit Leitungswasser sofort mit dem Peroxydase-Reagens nach Graham-Knoll und Giemsa gefärbt (Methode nach UNDRITZ und HEGG).

Von den erhaltenen 24 Präparaten enthielten 21 überhaupt Zellen oder zellähnliche Gebilde. In 21 Präparaten fanden wir Erythrozyten, welche sich besonders in den mit Peroxydase-Reagentien gefärbten gut erkennen ließen. Zum großen Teil zeigten sie aber Stechapfelform, was wir auf nicht ausreichende Rehydratation der eingetrockneten Zellen zurückführten. Die Zahl der in den Präparaten deutlich erkennbaren Erythrozyten lag im Durchschnitt je Einzelpräparat bei 13,5. Es handelte sich also um eine relativ sehr geringe Anzahl, wenn man die Zahl von

4,5 bis 5 Mio im mm^3 Vollblut bedenkt. Es erscheint daher sehr zweifelhaft, ob die obenangeführte Behauptung SIMONINs überhaupt von Bedeutung ist. Man muß hier natürlich bedenken, daß es sich bei unseren Untersuchungen nur um Leichenhaut handelte.

Die Zahl der Epidermiszellen betrug an kernhaltigen und karyolytischen Zellen je Einzelpräparat im Durchschnitt 38,57. Diese Durchschnittszellzahl wird durch Auszählen sämtlicher Zellen einer Präparategruppe und Division durch die Zahl der Präparate erhalten. Die Berechnung der Zellzahl in Prozenten ist oft wegen sehr niedriger Zellzahl nicht brauchbar. Wegen der niedrigen Zahlen werden auch zwei Dezimalstellen hinter dem Komma angegeben, um auch feinere Unterschiede noch auszudrücken.

Diese rein statistische Zahl verfälscht aber das Bild sehr stark, da sich in einem Präparat mehrere Zellverbände von insgesamt 716 Zellen fanden. Die übrigen zeigten nur 4,2 Zellen je Einzelpräparat, und zwar sowohl kernhaltige als auch karyolytische und kernlose zusammen.

Die Einzelzellen waren zum Teil spindelförmig mit einem Kern-Plasma-Verhältnis von etwa 1 : 3 und zum Teil polygonal mit einem Kern-Plasma-Verhältnis von 1 : 4 bis 1 : 5 (Abbildung 7). Im übrigen waren sie, abgesehen von dem Präparat mit den Zellverbänden, überwiegend kernlos oder hatten einen karyolytischen Kern. Da die Zellgrenzen meistens etwas unscharf waren, haben wir die spindelförmigen Zellen auch nicht als sicher von der Epidermis entstammend angesehen. Bei unbekannter Herkunft könnte es sich ebenso um Artefakte durch Austrocknung und mangelnde Rehydratation handeln. Wir haben ähnliche spindelförmige Zellen, wie noch zu berichten sein wird, auch in Präparaten der Leber,

der Milz, der Niere und des Vaginalepithels gesehen.

Optimale Färbbarkeit zeigten die nach Papanicolaou behandelten Zellen. Peroxydasefärbung war in der Kernfärbbarkeit mit Giemsa deutlich mangelhafter, da die Kerne wenig differenziert dargestellt waren. Dagegen zeigte die Färbung mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach durchaus noch recht gute Ergebnisse.

2. Nachweis von Oberhautzellen auf Messern nach Schnitten in Kopfschwarte, Brusthaut und Daumenhaut

Es sollte einerseits untersucht werden, ob auf einem Messer überhaupt Zellen nachgewiesen werden können, wenn ein gerader Schnitt durch die Oberhaut geführt worden ist. Andererseits sollten denkbare Unterschiede der Ausbeute je nach dem Entnahmeort gezeigt werden. Theoretisch ist der Zellabrieb und damit die Ausbeute von der Derbheit der Haut abhängig. Diese wird im wesentlichen durch die Dicke des Stratum corneum und den Bindegewebsgehalt der Subcutis beziehungsweise die Papillardichte bestimmt. Da die Brusthaut weicher als die Kopfschwarte und diese wiederum weicher als die Daumenhaut ist, konnte bei den Schnitten durch die Brusthaut die größte Ausbeute erwartet werden.

Es wurden an einer Leiche mit 6 einfachen Küchenmessern, also Messern mit einer relativ rauhen, unpolierten Klinge, je 2 Schnitte in die Brusthaut, die Kopfschwarte und die Daumenhaut gesetzt. Es wurde stets bis auf den Knochen geschnitten, um sicher jede Hautschicht zu

erfassen. Die Schnitte hatten je etwa 5 cm Länge.

Mit bloßem Auge ließen sich auf den Klingen keine Spuren feststellen. Die Messer wurden dann 12 Stunden bei Zimmertemperatur in einem staubdichten Gefäß getrocknet. In 12 Objektträger wurde mit einem Glasschreiberdiamant ein Kreis von etwa 1 cm Durchmesser eingritzelt. Unter Verwendung einer Monokellupe von 10 Dioptrien wurde nun je eine Klingenseite über einem markierten Kreis mit einem feinen Präparierskalpell abgeschabt. Mit der Lupe ließen sich nur wenige, gerade noch sichtbare Blutkrüstchen erkennen. In 6 Kreise wurde dann mit einer Haarpipette ein glasstecknadelkopfgroßer Tropfen menschliches AB-Mischserum und in 6 Kreise ein Tropfen 0,9 %ige NaCl-Lösung aufgetropft. Mit einer Präpariernadel wurden die Tropfen in den Kreisen verteilt, um alle Schüppchen aufzuschwemmen. Nach Lufttrocknen wurden je 1 in NaCl-Lösung und 1 in Mischserum aufgeschwemmtes Präparat mit Hämatoxylin-Eosin, mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach, mit Peroxydasereagens nach Graham-Knoll und Giemsa und mit Giemsa allein sowie je 2 nach Papanicolaou mit Polychrom 3a gefärbt.

Es zeigte sich, daß auch bei genauester Durchmusterung in keinem der Präparate eine kernhaltige Zelle zu sehen war. Es fanden sich vereinzelte schattenhafte Erythrozyten und wenige kernlose polygonale, glässig durchscheinende Zellen, die wohl dem Stratum corneum entstammten. Bei Zellen unbekannter Herkunft hätte man auch hier keine Diagnose wagen dürfen. Die überraschend spärliche Ausbeute läßt sich natürlich nur unter größten Vorbehalten verwerten, da es sich ja um Leichenhaut handelte. Hautturgor und Blutgehalt der Haut des Lebenden

haben sicher einen großen Einfluß auf Zellausbeute und Zellart.

3. Die Zellalterung auf Baumwollkordeln

Im Fall J. war angeblich ein großer Teil der Zellen auf der Zierkordel der fraglichen Mordwaffe nachgewiesen worden. Diese Spuren waren nach 1 Monat asserviert und nach 4 beziehungsweise 12 Monaten aufgearbeitet worden. Es sollte nun untersucht werden, ob nach mehreren Monaten überhaupt noch Zellen nachweisbar wären, und welche Veränderungen sie zeigen. Wir gingen davon aus, daß die Zellen nur dadurch an die Zierkordel gelangt sein könnten, daß diese direkt mit der Wunde in Berührung gekommen sei. Da der Zellenachweis auf Messerklingen negativ war, auch wenn sie schon nach 12 Stunden untersucht wurden, erübrigte sich natürlich die Untersuchung der Epidermiszellalterung auf Metall.

Durch Schnitte in die Kopfhaut, die Brusthaut und die Daumenhaut von Leichen wurden je 6,15 cm lange, gewendelte Kordeln aus mercerisierter Baumwolle gezogen. Die Kordeln wurden dann mit Heftklammern auf Zeichenpappe festgeklammert und staubdicht bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach jeweils 1 Monat wurden die Blutkrüstchen mit einem feinen Skalpell von den Kordeln abgekratzt und in AB-Mischserum aufgeschwemmt. Sie wurden dann mit einer Präpariernadel im Serum zerstoßen (Vorschrift nach UNDRITZ und HEGG). Je 1 Präparat wurde dann mit Hämatoxylin-Eosin, mit Kresylechtviolett, mit dem Peroxydase-Reagens nach Graham-Knoll und Giemsa sowie nach Pappenheim gefärbt.

Da der Zellabrieb mit den Kordeln größer war als mit Messerklingen, war die Zellausbeute deutlich größer. Bei den nach 1 Monat angefertigten Präparaten war der Anteil an kernhaltigen größer als der an kernlosen Zellen. Es fanden sich je Einzelpräparat 17,75 kernhaltige und 8,16 kernlose Zellen. Erythrozyten waren nicht nachweisbar, dagegen aber insgesamt 6 segmentkernige Leukozyten. Nach 2 Monaten sank die Zahl der kernhaltigen Zellen auf 3,42 je Einzelpräparat und die kernlosen stiegen auf 9,82. Nach 3 Monaten waren nur noch zellähnliche schattenhafte, kernlose Gebilde nachweisbar. Da alle Präparate durch Textilfasern und Bakterien verunreinigt waren, haben wir diese Gebilde nicht mehr als Zellen klassifiziert. In 2 der nach 1 Monat angefertigten Präparate waren Zellverbände enthalten. Um auszuschließen, daß gerade die nach 3 Monaten aufgearbeiteten Kordeln keine Zellen aufgenommen hatten, wurden auch nach 4, 5 und 6 Monaten noch Präparate in der obenbeschriebenen Weise angefertigt. Es konnten aber auch dann keine Zellen mehr nachgewiesen werden.

Es ergab sich also, daß schon nach 3 Monaten unfixierter Lagerung Oberhautzellen auf Baumwollkordeln nicht mehr nachweisbar waren!

4. Vergleich der Epidermiszellen verschiedener örtlicher Herkunft

In den Präparaten von Brusthaut, Kopfschwarte und Daumenhaut zeigten sich nur wenige klare, polygonale, kernhaltige Zellen, die keinen Unterschied hinsichtlich Form, Größe, Färbung oder Häufigkeit aufwiesen. Daher war eine Einordnung auf Grund der Plattenepithelien

- wie es ja auch an Hand der normalen Histologie nicht zu erwarten war - nicht möglich. Es wurde versucht, die Zellen nach der Form ihrer Zellkerne zu ordnen. Dabei fanden sich nur 3 deutlich unterscheidbare Formen: große und kleinere runde, fast elliptische und schmale, leicht spindelförmige Kerne. Die spindelförmigen Kerne wurden als Fibrozytenkerne angesehen. Ausgehend von der Überlegung, daß die Kopfschwarte und die Daumenhaut bindegewebsreicher sind als die Brusthaut oder die Haut des Oberarms, wurde daher in den Einzelpräparaten das Verhältnis der Zellen mit ovalem Kern zu denen mit einem spindelförmigen Kern ähnlich einem Differentialblutbild ausgezählt. Es zeigte sich, daß unabhängig vom Entnahmeort das Verhältnis etwa 2 : 1 zu Gunsten der ovalen Kerne war. Da wir, wie oben beschrieben, keineswegs in jedem Ausstrich 100 Zellen fanden, wurde nicht wie beim Auszählen eines Blutbildes auf 100 Zellen bezogen, sondern auf die Gesamtzahl im Einzelpräparat. Hierdurch nimmt natürlich die Ungenauigkeit zu. Nur in einem Fall kann man bei der Untersuchung von Epidermisspuren eine, wenn auch negative Aussage machen: wenn man einen Zellverband mit einem Haarbalg findet, kann das Material nicht von der Hohlhand oder der Fußsohle stammen.

5. Optimale Färbungen von Hautzellen

Bei frischverarbeiteten Spuren waren alle angewandten Färbungen fast gleich gut. Aber schon nach 24 Stunden unfixierter Lagerung finden sich deutliche Unterschiede in der Färbbarkeit mit den angewandten Färbungen. Da die Menge der Zellspuren aber normalerweise sicherlich immer sehr

gering ist, besteht keine Möglichkeit, an einer Spur zahlreiche Färbungen gleichzeitig zu versuchen. Die Standardfärbung mit Hämatoxylin und Eosin zeigt schon nach 24 Stunden große Nachteile. Die Kerne sind nicht mehr differenziert und kräftig angefärbt, auch wenn die Färbezeit mit Hämatoxylin 10 min überschreitet. Die Färbezeit mit Eosin wird unsicher. Oft waren die Zellen trotz 3 min langer Färbung mit Eosin blaß dargestellt, oft auch nach längerer unfixierter Lagerung schon nach einer halben Minute überfärbt. In der Annahme, daß der Fettgehalt mancher Hautspuren die mangelhafte Färbung mancher H.E.-Präparate verursacht habe, wurden einige Präparate mit Methanol anstatt mit Formalin fixiert. Auch dann zeigten sich die gleichen Ergebnisse.

Die Peroxydase-Reaktion nach Graham-Knoll mit Giemsa ergab meistens eine schlechte Färbung der Kerne und fast immer, besonders in älteren Spuren, eine negative Reaktion auch der Leukozyten. Die Methode wurde nur verwandt, da sie im Falle J. von UNDRITZ und HEGG benutzt worden war. Insbesondere, wenn wie von diesen Autoren angegebene, in Humanserum aufgeschwemmt wurde, war sehr oft der gesamte Ausstrich homogen bräunlich gefärbt.

Die Pappenheim-Färbung zeigte anfangs gute Ergebnisse, aber nach einiger Zeit blaßte sie aus. Sie ist also im allgemeinen nur dann brauchbar, wenn die Präparate sofort photographiert werden. Mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach ließen sich auch ältere Spuren meistens differenziert färben. Optimale Färbungen waren mit Kresylechtviolett und nach Papanicolaou mit Polychrom 3a auch an alten Spuren möglich. Da durch Kresylechtviolett die Lösungsmittel manchmal ebenfalls homogen angefärbt wurden, stellten sich oft die sonst zartrosa ge-

färbten Zellen als Negativ recht deutlich dar. Die 3 zuletzt genannten Färbungen sind ungefähr gleich gut.

D. Organzellen

1. Kasuistik und Literatur

Im Jahr 1959 wurde der Landmaschinenhändler Z. in einem Orte der Schweiz durch Revolverschüsse und Dolchstiche ermordet. Einer der Schüsse führte infolge Verletzung der Aorta thoracalis zu einem Hämatothorax von 3 Litern. Ein Dolchstich verletzte die Leber. In dem folgenden Prozeß wurde der Rechtsanwalt J. des Mordes angeklagt und verurteilt. Die Verurteilung basierte zu einem wesentlichen Teil auf dem Gutachten von UNDRITZ und HEGG, welche an asservierten Kleidungsstücken, der Zierkordel eines marrokanischen Zierdolches sowie einem Fahrrad aus dem Eigentum des Angeklagten außer Blut auch "Hunderte von Leberzellen" sowie andere Zellen innerer Organe nachgewiesen haben wollten.

Die Ergebnisse der beiden Autoren wurden anschließend in 3 Mitteilungen veröffentlicht. Im Gegensatz zu ihrer Behauptung in der ersten dieser Veröffentlichungen waren zwar auch früher schon blutfremde Zellen in Blutflecken nachgewiesen worden, so 1905 von KOCKEL, 1923 von HABERDA und 1931 von WEIMANN. Dennoch erregte ihre Mitteilung in Fachkreisen großes Aufsehen, denn bislang lagen keine experimentellen Erfahrungen größeren Ausmaßes auf diesem Gebiet der Spurenkunde vor. KOCKEL hatte Epidermis im Zellverband durch Einbettung der Spuren samt Spurenträger in Celloidin in 4 Fällen nachgewiesen. Bei dem von HABERDA berichteten Fall hatte die Untersuchung eines blutbefleckten Messers die Behauptung des Verdächtigen bewiesen, daß er am Vortag mit

diesem Messer Pferdeleber geschnitten habe. Nähere Angaben, ob es sich um einen Leberzellverband oder Einzelzellen handelte, fehlen hier leider. WEIMANN wies Gefäße, Bindegewebsfasern, Aderhautpigmentzellen und eine Wimper auf dem blutbefleckten Hemd eines Mannes nach, der seine Frau durch das linke Auge erschossen hatte. Es handelte sich also, vielleicht abgesehen von HABERDAs Fall, immer um größere Zellverbände.

UNDRITZ und HEGG schreiben: "So bieten Leberzellen keine Schwierigkeiten, da man selbst nackte Kerne noch gut als solche erkennen kann". Eine solche Behauptung läßt sich aber nur dann aufrechterhalten, wenn man eine sehr große Erfahrung in der Beurteilung von Körperzellen und ihrer Kernstrukturen hat. Man muß bedenken, daß das Spurenmaterial eingetrocknet war, etwa 1 Monat bei Zimmertemperatur unfixiert in einem Kleiderschrank lag und dann erst wieder mit "Standardserum" in dem von UNDRITZ und HEGG angegebenen Verfahren aufgeschwemmt wurde. Die Zellen waren also vorher zahlreichen Umwelteinflüssen ausgesetzt. STENZ stellte aber bei der Untersuchung der Rattenleber fest, daß selbst bei Kühlschranktemperatur die Autolyse schon nach 2 - 4 Stunden feinere Untersuchungen nicht mehr zuläßt. Die Färbbarkeit des Zytoplasmas sei bei erhaltener Kernfärbung schon nach 10 - 12 Stunden unzuverlässig.

Selbst wenn man unterstellt, daß die Rattenleber sehr viel anfälliger ist als die menschliche Leber, müssen auch bei dieser starke Veränderungen vor sich gehen. Entsprechende Zweifel stellten sich bei vielen Fachleuten ein. MARESCH berichtet, daß er nur beim Durchstich der Leber Zellen gefunden habe, nicht aber beim Anstechen. Er wusch die Tatwerkzeuge mit Tyrodelösung und färbte das Zentrifugat mit Hämatoxylin-Eosin

oder nach Pappenheim-Unna. Er fand, daß in den Ausstrichen Zellen vorlagen, welche wie Leberzellen aussahen und sich entsprechend färbten, aber keineswegs charakteristisch geformt oder gelagert waren. JELACIC stellte als erste vergleichende Untersuchungen von verschiedenen Körperzellen an. Sie fand, daß Leberzellen auf Metall 3 Monate und länger haltbar sind. Metall hat nach ihrer Mitteilung konservierende Eigenschaften. Muskel- und Nierenzellen seien weniger haltbar. Sie beschränkte sich bei ihren Leichenversuchen auf die Untersuchung der Altersveränderungen der Zellen und die Haltbarkeit der Zellen auf verschiedenen Spurenträgern. Zur Identifizierung von Einzelzellen in unbekanntem Spurenmaterial nimmt sie nicht Stellung. Auch WILLEME-PISSART und MOUREAU haben Leber- und Nierenzellen untersucht, ohne die Identifizierung von Einzelzellen im Vergleich zu besprechen. Daß überhaupt Organzellen an Tatwerkzeugen nachgewiesen werden können, erscheint nach den Veröffentlichungen von UNDRITZ und HEGG, MARESCHE, JELACIC und von WILLEME-PISSART und MOUREAU gesichert. Es ist zweifellos das Verdienst von UNDRITZ und HEGG, diese in Vergessenheit geratene Tatsache wieder mitgeteilt zu haben.

Dieser Sachverhalt rechtfertigt aber nicht den in dem Kriminalfall J. gezogenen Schluß: Da Zellen gefunden wurden, die nicht Blutzellen entsprechen und ähnlich wie Leberzellen aussehen, wird es sich um solche handeln, da der Ermordete unter anderem einen Leberstich erhalten hat. Ein histologisches Kriterium für eine einzelne Leberzelle, das ermöglicht hätte, sie sicher als solche zu identifizieren, lag ja nicht vor. Gerade hier liegt aber das entscheidende Problem: da bei einem Stich in die Leber Haut, subkutanes Fettgewebe, Muskulatur und Peritoneum viscerales wie

parietale ebenfalls durchtrennt werden müssen, um in das Organ zu gelangen, sind theoretisch auch Zellen dieser Schichten zu erwarten. In ihrer zweiten Mitteilung berichten UNDRITZ und HEGG in Tabelle I tatsächlich von im Durchschnitt 14,4 nichtidentifizierbaren Zellen auf 100 Leukozyten. Hier könnte es sich um Zellen der oben angeführten Schichten handeln. Andererseits erscheint es erstaunlich, daß knapp ein Drittel der Zellen nicht identifiziert werden konnten, wo in dem Gutachten der Autoren (nach den zur Verfügung gestellten Unterlagen der Verteidigung) sogar von "Gefäßzellen (!) innerer Organe" die Rede ist.

Es sollte untersucht werden, wie sich Leberzellen, Milzzellen und Nierenzellen voneinander unterscheiden. Weiter sollte die Haltbarkeit dieser Zellen in unfixiertem Zustand bestimmt werden, denn BOCK, ALDER und MOREAU hatten bei der Nachuntersuchung der Spuren nach einem Jahr noch Zellen von dem Etikett einer Weste gewonnen. Schließlich sollten die Organzellen auf Stoff nachgewiesen werden, da auf dem fraglichen Dolch selbst keine Zellen nachgewiesen werden konnten, dagegen aber auf der Zierkordel des Dolches. Zuletzt wurde ein Vergleich sämtlicher im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Zellen angestrebt.

2. Leberzellen

a) Stiche durch die Haut

Bei 22 Obduktionen wurde sofort nach dem Bauchschnitt mit einfachen Küchenmessern unter Sicht durch die Bauchhaut in die Leber der

Leichen gestochen. Von den 22 Verstorbenen waren 15 unter Blutverlust ums Leben gekommen, nämlich 14 durch Verkehrsunfälle und einer durch Kopfschuß. Bei den übrigen Leichen fanden sich folgende Todesursachen: 3mal Vergiftung, 2mal apoplektischer Insult, 1mal Herzinfarkt und 1mal Erwürgen. Es wurden Küchenmesser mit rauher unpolierter Klinge verwendet, da Vorversuche gezeigt hatten, daß polierte Sektionsmesser eine deutlich geringere Ausbeute brachten.

Die Messer wurden dann in einem staubdichten Holzkasten so festgeklemmt, daß die Klingen die Wand nicht berühren konnten. Nach 12 Stunden wurden die Klingen mit einem feinen Skalpell über Objektträgern abgekratzt. Hierzu wurde eine Monokellupe von 10 Dioptrien benutzt. Bei jeder Leiche war mit je zwei Messern an verschiedenen Stellen in die Leber gestochen worden, so daß insgesamt 44 Messer auf Leberzellspuren untersucht wurden. Die Schüppchen einer Klingenhälfte wurden jeweils auf einem Objektträger gesammelt. Nur wenn makroskopisch besonders viel Material auf einer Klingenhälfte haftete, wurden mehrere Objektträger von einer Seite beschickt. 70 Präparate wurden mit zellfreiem AB-Mischserum der Behringwerke und 32 mit 0,9 %iger NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Hierbei wurde das im Kapitel "Methodentechnik" (s.u.) näher beschriebene Verfahren von UNDRITZ und HEGG angewandt. Diese Autoren setzen mit einer Platinöse einen Tropfen des Lösungsmittels neben die Schüppchen und ziehen diese dann mit einer Nadel in den Tropfen. Dann werden größere Schüppchen in der Lösung zerstoßen, aber grundsätzlich nicht zerquetscht oder verschmiert. Von den 102 Präparaten wurden nach Lufttrocknen bei Zimmertemperatur 35 mit Hämatoxylin-Eosin, 15 nach Papanicolaou mit Polychrom 3a, 10 mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach,

15 nach Pappenheim-Unna, 12 mit Peroxydasereagens Lepehne und Giemsa sowie 15 mit Peroxydase-Reagens Graham-Knoll und Giemsa gefärbt.

In 30 Präparaten fanden sich nach dem Anfärben keine Zellen oder Kerne, sondern nur vereinzelte Zelltrümmer oder Farbstoffpartikel. Da vor dem Anfärben aber Schüppchen sichtbar gewesen waren, muß angenommen werden, daß sie beim Färben vom Objektträger abgeschwommen waren, zumal da die auf der Färbebrücke angefertigten Präparate häufiger zellfrei waren als die in der Küvette gefärbten. Andere technische Fehler sind aber ebenfalls denkbar, z.B. mangelhafte Entfettung der Objektträger.

Insgesamt waren in 72 Präparaten Zellen nachweisbar. In diesen fanden sich je Präparat 125,9 Zellen, 19,93 nackte Kerne und 5,19 kernlose Zellen. In einem Präparat war eine quergestreifte Muskelfaser, und in 6 Präparaten Fettgewebe und Bindegewebe nachweisbar. Die Zellen waren zu einem beträchtlichen Teil aneinandergelagert, ohne daß eine für die Leberstruktur typische trabekuläre oder azinäre Anordnung deutlich gewesen wäre. Die Zellgrenzen waren fast immer unscharf, bis auf einzeln liegende Zellen.

Es fanden sich im wesentlichen 4 Zellformen: Polygonale Zellen mit ovalem, zentral gelegenen Kern, etwas verdichteten Kerngrenzen und gekörntem Chromatinmuster. Die Kerne erschienen insgesamt leicht bläschenförmig und zeigten kaum einmal einen Nucleolus. Bei diesen Zellen war das Kern-Plasma-Verhältnis etwa 1 : 3,5. Das Zytoplasma erschien gekörnt und relativ dicht und wies nur selten Vakuolen auf (Abbildung 8). Die zweite Gruppe von Zellen zeigte runde bis ovale Grenzen mit dichtem Kern und meistens einem Nucleolus. Bei diesen Zellen war das Zytoplasma transparenter und kaum gekörnt. Vakuolen waren häufiger

vorhanden. Das Kern-Plasma-Verhältnis betrug etwa 1 : 4 (Abbildung 9). Die dritte Gruppe zeigt polygonale Zellen mit kleinem, fast pyknotisch erscheinendem Kern. Das Zytoplasma war hier relativ reich an Vakuolen. Die vierte Gruppe zeigte mehr längliche, zum Teil eckige Zellen mit zentral liegendem Kern, der wie die Kerne der Gruppe 1 eine gekörnte Chromatinstruktur bei relativ dichten Kerngrenzen aufwies. Die Kerne waren aber stärker angefärbt als die der Gruppe 1 und nicht so transparent. Das Kern-Plasma-Verhältnis bei diesen Zellen betrug 1 : 3. Besonders bei der Gruppe 1 hatte man bisweilen den Eindruck, als ob mehrere Kerne in einer großen Zelle vorlagen, was aber wegen der sehr unscharfen Zellgrenzen nicht sicher entschieden werden konnte.

Bei den nackten Kernen waren die beschriebenen 4 Kerntypen vorhanden, sowie vereinzelt Kerne von segmentierten Leukozyten. Erythrozyten und Leukozyten konnten intakt kaum gefunden werden. In vielen der Präparate fanden sich grüngelbe bis grünbraune Massen, die als Galle angesehen wurden. In 4 Präparaten fanden sich Endothelien, die im Halbkreis mit ihren Schmalseiten so aneinandergelagert waren, daß es sich wahrscheinlich um Gallengangsabschnitte handelte, besonders da sie manchmal jene grüngelben fast homogenen Massen umschlossen. In größeren Zellverbänden war nur manchmal eine gewisse Ähnlichkeit mit einem Teil eines Leberacinus mehr zu ahnen, denn sicher zu sehen. Bei Unkenntnis des Entnahmeortes hätte man nur den Verdacht auf Leberzellen äußern, aber nicht mit gutem Gewissen eine sichere Diagnose stellen können.

b) Stiche unmittelbar in das Organ

Um einen Vergleich der Zellausbeute gegenüber den Stichen durch die Haut zu gewinnen, wurde mit Messern in 4 bei der Sektion aus der Bauchhöhle entfernte Lebern gestochen. Die Messer wurden anschließend wie oben für 12 Stunden bei Zimmertemperatur in Holzkästen aufbewahrt. Es wurden wieder die Klingen mit einem Präparierskalpell abgekratzt und die Schüppchen mit einer Nadel in einen Tropfen AB-Mischserum hineingezogen und darin zerstoßen. Wegen der makroskopisch bedeutend größeren Materialmenge wurden im Gegensatz zu den Stichen durch die Haut statt 2 Präparaten bis zu 5 von einem Messer beschickt. Es wurden so von 4 Messern insgesamt 18 Präparate hergestellt. 8 Präparate wurden mit Hämatoxylin-Eosin, 3 mit Peroxydase-Reagens Graham-Knoll, 2 mit Peroxydase-Reagens Lepehne, 2 mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach, 2 nach Pappenheim-Unna und 1 Präparat nach Papanicolaou mit Polychrom 3a gefärbt.

Es fanden sich je Präparat 188,1 Zellen, die meistens in größeren Verbänden gelagert waren. Diese Verbände zeigten oft fast typische Leberstruktur, so daß die Diagnose auch bei Unkenntnis der Herkunft in 5 der Präparate hätte gestellt werden können. Nackte Kerne waren je Präparat mit 24,6 vorhanden. Die Zellen waren deutlich schärfer als im Versuch a). Eindeutige Mehrkernigkeit war relativ häufig. Die Zellen erschienen deutlich besser erhalten. Es zeigten alle vier oben beschriebenen Zelltypen, wobei die polygonalen Zellen mit bläschenartigem Kern und granuliertem Chromatin am häufigsten waren (Abbildung 9). Das Zytoplasma zeigte eine geringere Körnelung, und die Kerne waren zar-

ter angefärbt. Zellen des peripheren Blutes waren nur selten nachweisbar, kernlose Zellen praktisch nicht vorhanden. Nur in 2 Präparaten wurden eine bzw. 2 kernlose Zellen gefunden. Daraus wurde geschlossen, daß es sich im obigen Fall um Hautschuppen handelte. Der erstaunlich bessere Erhaltungszustand der Zellen mag vielleicht so zu erklären sein, daß das subkutane Fett, die Muskulatur und die Haut mit ihren Flüssigkeiten einen gewissen zerstörenden Einfluß auf die Leberzellen haben.

Wenn man bedenkt, daß bei den Stichen durch die Haut von 44 Messern insgesamt 9065 Zellen gewonnen wurden und bei den Stichen unmittelbar in das Organ von vier Messern 3293 Zellen, wird der große Unterschied der Ausbeute besonders deutlich. Bei den Stichen in das Organ konnte also die etwa vierfache Anzahl an Zellen gewonnen werden. Der Zellverlust beim Herausziehen des Messers durch die Bauchwand betrifft an der Leiche also etwa $\frac{3}{4}$ der Leberzellen. Beim Lebenden mit seinem sehr viel größeren Hautturgor kann erwartet werden, daß noch viel mehr Leberzellen beim Herausziehen eines Messers abgewischt werden. Überraschend war auch die geringe Anzahl von Blutzellen, obwohl die Leberschnittflächen keineswegs anämisch erschienen waren, und die von UNDRITZ und HEGG angegebene Technik angewandt worden war. Diese fanden im Schnitt über 450 Leukozyten je Präparat, obwohl die Leiche, von der die Spuren stammen sollten, stark ausgeblutet war. Im Mittel fanden sich bei unseren Untersuchungen 2,85 Leukozyten je Präparat. Als Erklärung für den geringeren Anteil an Blutzellen bei unseren Versuchen scheint aber das Versacken des Blutes in die abhängenden Organe der Leiche nicht ausreichend. Insgesamt ist es im Fall J. nicht ganz erklärbar, wie diese behaupteten Mengen von Blut und blutfremden Zellen auf

die Kleidungsstücke und die übrigen Asservate des Angeklagten gelangt sein sollten.

c) Tupfpräparate

Um eine Vorstellung von der Haftfähigkeit der Leberzellen in ihrem Verband zu erlangen, wurden 4 Objektträger leicht auf eine frische Leberschnittfläche aufgedrückt. Dabei wurde darauf geachtet, daß die Objektträger beim Abheben nicht verschoben wurden. Nach dem Trocknen bei Zimmertemperatur wurden 3 Präparate mit Hämatoxylin und eines nach Pappenheim-Unna gefärbt. Es fand sich ein einem histologischen Schnitt der Leber ähnelndes Zellbild, das von zahlreichen vakuolenartigen, kreisrunden Löchern durchsetzt war. Daneben fanden sich etwas zellreichere "Glisson'sche Dreiecke". Das Bild erschien sehr reich an intakten Erythrozyten. Es ließen sich also alle wesentlichen Anteile der Leber durch einfaches Andrücken ablösen. Daher kann wohl mit Recht erwartet werden, daß auch alle Zellen an einem Messer, das in die Leber gestochen wurde, nachweisbar sein können. In einem Präparat war das Zellbild so erstaunlich klar, daß man fast versucht war, die pathologische Diagnose "Stauungshyperämie bei großtropfiger Leberverfettung und leichter Cholangitis" zu stellen.

d) Die Zellalterung auf Metall

Es wurde mit 6 Messern durch die Haut unter Sicht in die Leber einer Leiche gestochen. Die Messer wurden dann in Abständen von jeweils 1 Monat über Objektträgern abgekratzt und die Schüppchen mit 0,9 %iger NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Sie wurden dann mit Hämatoxylin-Eosin bzw. nach Papanicolaou mit Polychrom 3c gefärbt. Nach 1 Monat fand sich eine geringe Vermehrung der Granulierung des Zytoplasma und eine weitere Auflösung der Zellgrenzen. Die Kerne waren kaum verändert. Lediglich das Chromatinmuster erschien unschärfer differenziert. Nach 2 Monaten war die Kernstruktur der meisten Zellen kaum noch zu erkennen. Um den Nucleolus fand sich eine fast homogene Anreicherung des Farbstoffes, und der übrige Kern war häufig optisch fast leer. Nach 3 Monaten fand sich eine braune schollige Veränderung der Schüppchen, die das Zellbild zum Teil überlagerte. Die Zellgrenzen waren völlig geschwunden, und die Kerne stellten nur noch blasse undifferenzierte Scheibchen dar. Wenn die Kerne nicht in die Schollen in einer gewissen Regelmäßigkeit eingelagert gewesen wären, hätte man fast von nackten Kernen sprechen können. Nach 4 Monaten waren nur noch Schollen und keine Kerne mehr nachweisbar, auch nicht an den beiden anderen Messern, die wegen des negativen Ergebnisses zur Kontrolle ebenfalls nach 4 Monaten verarbeitet wurden. Der Versuch wurde daher abgebrochen.

Die Messer waren staubdicht in einer Schublade aufbewahrt worden. Sie waren den zwischen Mai und August herrschenden sommerlichen Temperaturen und der entsprechenden Luftfeuchtigkeit ausgesetzt gewesen. Der

relativ rasche Zerfall der Zellen, der ja auch schneller vor sich ging als in den vergleichbaren Untersuchungen von JELACIC, ist wohl zum Teil auf die in Bonn herrschende hohe Luftfeuchtigkeit im Sommer zurückzuführen. Auf den nach 3 Monaten untersuchten Messern erschienen die Spuren schon makroskopisch schmierig und leicht verflüssigt. Tatsächlich konnte an einem 6 Monate in einem kühlen, trocknen Keller aufbewahrten Messer ein ähnliches Zellbild, wie hier nach 3 Monaten, gefunden werden.

Eine annähernde Altersbestimmung der Zellen an Hand dieser Untersuchung ließ sich nicht vornehmen, da die Untersuchungsabstände zu groß waren. Eine solche Untersuchung hätte auch die Themastellung weit überschritten. Wegen der sehr geringeren Blutbeimengung in den Spuren war eine Altersbestimmung auf der Basis der Peroxydasereaktion nach Graham-Knoll, wie sie von UNDRITZ und HEGG angegeben, und von KEMPEN nachgeprüft wurde, nicht möglich.

e) Die Zellalterung auf Baumwolle

Bei einer Sektion wurde eine frische Leberschnittfläche mit 8, je 4 cm² großen, sauberen, weißen Baumwolläppchen abgewischt. Die Läppchen wurden dann getrennt in Briefumschlägen bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Jeweils in Abständen von 1 Monat wurde ein etwa 1 cm² großes Stück ausgeschnitten und über 12 Stunden in einer Abdampfschale mit 1 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung extrahiert. Der Extrakt wurde dann auf mehrere Objektträger aufgetropft und nach dem Eintrocknen gefärbt.

Nach einem Monat fanden sich in den beiden nach Papanicolaou bzw. mit Kresylechtviolett gefärbten Präparaten scharfbegrenzte Zellen mit dichten fast homogenen Kernen, die z.T. gestreckt oder fast spindelförmig erschienen. Daneben fanden sich aber auch einige Zellen, die in Form und Aussehen den in den ersten beiden Untersuchungen gefundenen entsprachen. Im übrigen fanden sich mehrere mit Farbstoff durchtränkte Kochsalzkristalle.

Nach 2 Monaten waren in den nach Papanicolaou oder mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten beiden Präparaten keine kernhaltige Zellen, sondern lediglich einige kernlose Schuppen und Mikroorganismen nachweisbar. Dieses negative Ergebnis wurde auf eine zu geringe Durchtränkung des Stoffes mit Leberzellen zurückgeführt.

Nach 3 Monaten fanden sich wieder in den 4 Präparaten insgesamt 198 Zellen, die keine scharfen Zellgrenzen und eine fast homogene Kernstruktur aufwiesen. Die Beurteilung der Zellen war durch beigemengte Stofffasern zum Teil erschwert. Auch hier erschienen die Kerne häufig fast spindelförmig gestreckt und etwas pyknotisch. Von den 4 verwendeten Färbungen gaben die Papanicolaou- und die Hämatoxylin-Eosin-Färbung noch relativ differenzierte Ergebnisse. Die Pappenheim-Unna-Färbung und die mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach überfärbten den ganzen Ausstrich, so daß eine Beurteilung der Zellen schwierig war.

Nach 4 Monaten konnten nur schattenhafte, nur entfernt an Zellen erinnernde Gebilde entdeckt werden. Dagegen fanden sich zahlreiche Mikroorganismen.

Nach 5 Monaten waren, auch an den übrigen 2 Stoffläppchen, keine Zellen außer Mikroorganismen mehr nachweisbar. Es sind daher auf Baum-

wolle nach spätestens 4 Monaten keine beurteilbaren Zellen mehr zu erwarten, wenn die Spuren bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden.

f) Die Zellalterung auf Baumwollkordeln

Bei einer Sektion wurde eine gewendelte, weiße Zierkordel aus merzerisierter Baumwolle durch eine wiederzusammengeklappte frische Leberschnittfläche gezogen. Darauf wurde die Kordel in 6 je 20 cm lange Stücke zerschnitten; diese wurden mit Heftklammern auf weißem Zeichenkarton fixiert und in einer Tüte verschlossen bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach 1 Monat wurde eine Kordel entnommen und mit einem Skalpell über mehreren Objektträgern abgekratzt. Die Schüppchen wurden in jeweils einen Tropfen AB-Mischserum hineingezogen und darin zerstochen. Nach dem Lufttrocknen Färbung. Ein Präparat wurde mit Hämatoxylin-Eosin, eines mit Kresylechtviolett, eines nach Pappenheim-Unna und eines mit Peroxydase-Reagens nach Graham-Knoll und Giemsa gefärbt.

Es fanden sich in 2 Präparaten 5 bzw. 3 Zellverbände von je etwa 100 Zellen. In den beiden anderen fanden sich einmal 30 und einmal 24 Zellen in kleineren Verbänden. Die Zellen waren differenziert gefärbt, mit meist runden und gekörneltten Kernen. Soweit die Zellgrenzen beurteilbar waren, handelte es sich um polygonale und zum Teil ovale Zellen. Ihre Lagerung war zwar ähnliche der von Leberzellen, aber keineswegs so typisch, daß man sie ohne Kenntnis der Herkunft als Leberzellen identifizieren konnte.

Nach 2 Monaten konnten erstaunlicherweise keine Zellen mehr nach-

gewiesen werden. Die Spuren waren schmierig und feucht geworden und strömten Fäulnisgeruch aus. Da mit Sicherheit kein Wasser oder sonstige Flüssigkeiten während der Lagerung mit den Kordeln in Berührung gekommen waren, konnte keine einleuchtende Erklärung für diesen Befund gefunden werden. Es ist vorstellbar, daß irgendeine Reaktion der Spur mit den merzerisierten Baumwollfasern stattgefunden hat. Bei der Merzerisation werden die Fasern ja mit speziellen Lösungen behandelt. Wahrscheinlich liegt in dieser Behandlung die Ursache dieses Phänomens, denn die Spuren auf den einfachen Baumwolläppchen waren zur gleichen Zeit entnommen und unter den gleichen Umständen in der gleichen Schublade aufbewahrt worden. Bei diesen Spuren waren aber immerhin noch nach 3 Monaten Zellen nachweisbar gewesen.

3. Milzzellen

a) Stiche durch die Haut

Bei 18 Obduktionen wurde unmittelbar nach dem Hautschnitt unter Sicht mit einfachen Küchenmessern durch die Bauchhaut in die Milz gestochen. Nach der Entnahme wurden die Messer sofort staubdicht verpackt und für 12 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Anschließend wurde jeweils eine Klingenseite über Objektträgern abgekratzt. Nur wenn mehr Material vorlag, wurden mehrere Objektträger von einer Klingenseite beschickt. Neben die Schüppchen wurde entweder ein Tröpfchen AB-Mischserum oder ein Tröpfchen 0,9 %ige NaCl-Lösung gesetzt. Von den

so gewonnenen Präparaten wurden 20 mit NaCl-Lösung und 23 mit AB-Mischserum aufgeschwemmt. Die Schüppchen wurden wie bei den Leberuntersuchungen mit einer Nadel in die Lösungen hineingezogen und darin zerstoßen. Nach dem Lufttrocknen Färbung. Von den 43 Präparaten wurden 21 mit Hämatoxylin-Eosin, 10 mit Peroxydase-Reagens nach Graham-Knoll und Giemsa, 5 mit Peroxydase-Reagens Lepehne und Giemsa, 4 mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach, 2 nach Pappenheim-Unna und 1 nach Papanicolaou mit Polychrom 3a gefärbt.

Es fand sich ein sehr buntes Zellbild mit im Durchschnitt 148,37 Zellen und 641,74 nackten Kernen je Einzelpräparat. Daneben waren noch kernlose Zellen und Bindegewebsfasern nachweisbar. Neben den Zellen des peripheren Blutes waren zahlreiche recht unterschiedliche Zellformen zu sehen. Es fanden sich polygonale Zellen mit ovalen, scheibenartigen Kernen, die nur zu einem geringeren Teil eine klare, teils gekörnelte, teils faserige Struktur aufwiesen. Nucleolen wurden nur selten beobachtet (Abbildung 10). Das Kern-Plasma-Verhältnis dieser Zellgruppen betrug etwa 1 : 3. Eine weitere Zellgruppe zeigte ovale bis runde Grenzen und enthielt dichtere kleinere Kerne. Auch hier betrug das Kern-Plasma-Verhältnis etwa 1 : 3. Zum Teil waren diese Zellen ähnlich groß wie die der ersten Gruppe, teilweise aber auch bis zu einem Drittel kleiner. Eine weitere Gruppe wies gestreckte Kerne mit etwas verdichteter Kerngrenze und nur zartgekörnelten Chromatinstrukturen auf. Ihr Zytoplasma war ebenso wie bei den vorherigen Gruppen gekörnelt und relativ dicht. Die Zellgrenzen waren meistens unscharf, und wenn die Zellen im Verband lagen, was überwiegend der Fall war, waren sie kaum zu erkennen.

Neben diesen Formen kamen zahlreiche Varianten mit spindelförmigen, stabförmigen und mit Ausläufern versehenen Zellen vor. Dieser letzte Typ entsprach aber nicht histiozytären Elementen, da die Ausläufer mehr kolbig erschienen. Auch echte Bindegewebszellen und Endothelien waren in einigen der Präparate zu sehen. Obwohl die Zellen meistens im Verband vorlagen, fand sich aber keine für die Milz typische Struktur eines Milzsinus oder eines Follikels. Nur in einem Präparat fanden sich 3 Kapillaren. Die nackten Kerne zeigten die oben beschriebenen Formen und zahlreiche Varianten. Bei ihnen war die Zahl der fast homogen durchgefärbten Kerne noch zahlreicher als bei den Zellen.

Bei den Färbungen fiel auf, daß sowohl die Pappenheim- als auch die Giemsa-Färbung der Peroxydase-Reaktionen besonders differenzierte Bilder ergab. Peroxydasepositive Zellen konnten nicht entdeckt werden, aber häufig waren sowohl die mit Peroxydase-Reagens Graham-Knoll als auch die mit Peroxydase-Reagens Lepehne behandelten Präparate von einer homogenen grünbraunen bis schokoladebraunen Färbung überlagert. Ein auffälliger Unterschied zwischen den mit AB-Mischserum und den mit NaCl-Lösung aufgeschwemmten Präparaten war nicht zu entdecken.

Das gesamte Zellbild war so mannigfaltig, daß man nicht von einem "Zellbild der Milz" hätte sprechen können, wie es ja überhaupt keine Milzzelle an sich gibt. Eine Einordnung der verschiedenen Zellen, wie z.B. bei Vaginalzellen, erschien unmöglich, da von Präparat zu Präparat immer wieder neue Zellen auftauchten. Es erscheint unwahrscheinlich, daß sich überhaupt ein typisches Zellverteilungsbild in solchen denaturierten Ausstrichen zu gewinnen ist.

b) Stiche unmittelbar in das Organ

Es wurde bei Sektionen unmittelbar nach der Entnahme mit Küchenmessern in die Milz gestochen, und zwar mit je 2 Messern in 2 verschiedene Organe. Nach der üblichen staubfreien Lagerung für 12 Stunden bei Zimmertemperatur wurden die Messer mit einem Skalpell über je 2 Objektträgern je Messer abgekratzt und die Schüppchen mit einem Tropfen AB-Mischserum aufgeschwemmt, 4 Präparate wurden mit Hämatoxylin-Eosin, 2 mit Peroxydase-Reagens Lepehne und 2 mit Peroxydase-Reagens Graham-Knoll und Giemsa gefärbt.

Es zeigte sich, daß die Zellen deutlich differenzierter angefärbt waren als bei den Stichen durch die Haut. Es handelte sich hier wohl um einen ähnlichen Vorgang wie bei den Leberzelluntersuchungen. Die Zellen waren zu einem großen Teil geordnet gelagert. In 4 Präparaten fanden sich trabekuläre Strukturen aus dicht aneinandergelagerten Zellen, die sich nur durch etwas weniger klare Anfärbung von Milzsinus unterschieden. Bei diesen Präparaten wäre auch bei unbekannter Herkunft der Spur eine Diagnose möglich gewesen. Bei den nicht in dieser Weise geordneten Zellen war das nicht möglich. Auffällig war auch die geringe Zahl der nackten Kerne gegenüber den intakten Zellen. In den 8 Präparaten fanden sich im Durchschnitt 430,5 Zellen und 82,25 nackte Kerne je Einzelpräparat. Der Verlust des Zelleibes scheint daher auch zum Teil durch die mechanische Beanspruchung beim Herausziehen des Messers durch die Bauchhaut sowie vielleicht durch die Einwirkung der Flüssigkeiten der Bauchhautgewebe bedingt zu sein.

c) Tupfpräparate

Um einen Anhalt für die mechanische Haftung der einzelnen zellulären Bestandteile der Milz zu erhalten, wurden entfettete Objektträger auf eine frische Schnittfläche der Milz aufgedrückt. Es wurde versucht, die beiden Objektträger wie bei den Leberuntersuchungen ohne Wischen abzuheben, was aber wegen der weicheren Konsistenz des Organs nur unvollkommen gelang. Die Präparate wurden nach dem Eintrocknen fixiert und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Im Gegensatz zu den entsprechenden Präparaten der Leber bot sich kein so deutliches, einem histologischen Schnitt ähnliches Zellbild. Immerhin waren auch hier 2 Follikel relativ unzerstört vorhanden. Aber die Zahl der nackten Kerne übertraf doch weit die der **Zellen**, als Zeichen der mechanischen Anfälligkeit des Zelleibes, die im vorstehenden Absatz angenommen wurde. Es fand sich auch in einem Präparat ein Bindegewebsstrang und zwei Kapillaren. Sinusähnliche Strukturen konnten mehr erahnt, denn wirklich gesehen werden. Insgesamt bot sich mehr das Bild eines Ausstriches als das eines Abdruckes der Schnittfläche.

d) Die Zellalterung auf Metall

Bei einer Obduktion wurde nach Eröffnung der Bauchhöhle unter Sicht mit 6 Küchenmessern durch die Bauchhaut in die Milz gestochen. Die Messer wurden in einem Holzkasten berührungs- und staubfrei fixiert und bei Zimmertemperatur aufbewahrt. In Monatsabständen wurden die Klin-

gen wie üblich abgekratzt und die Schüppchen mit 0,9 %iger NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Die Präparate wurden mit Hämatoxylin-Eosin bzw. nach Papanicolaou mit Polychrom 3a gefärbt.

Nach 1 Monat fanden sich Zellbilder, die sich praktisch nicht von denen nach 12 Stunden unterschieden. Auch nach 2 Monaten waren keine augenfälligen Veränderungen feststellbar. Die Zellen waren differenziert angefärbt und nur in ihren Grenzen etwas unscharf. Gegenüber den nach 12 Stunden angefärbten Zellen fiel nur auf, daß die Zahl der Zellen gegenüber den nackten Kernen in den nach 1 und 2 Monaten angefärbten Präparaten deutlich höher war. Das entsprach also keinesweg der Erwartung, daß Milzzellen während ihres Alterungsvorganges in unfixiertem Zustand zum Verlust des Zelleibes neigen. Da das Verhältnis von Zellen zu nackten Kernen im Gegenteil praktisch umgekehrt war wie in den nach 12 Stunden fixierten Präparaten, handelte es sich vielleicht um besonders widerstandsfähige Milzzellen. Diese Annahme erscheint glaubhaft, da die Spuren von der jüngsten Leiche dieser Untersuchungsreihe, nämlich einem 17 jährigen Mädchen, das erwürgt worden war, stammten. Es wurde leider versäumt, die Milzzellen dieser Leiche frisch ebenfalls zu untersuchen.

Nach 3 Monaten fand sich eine Zunahme der nackten Kerne gegenüber den intakten Zellen um das Doppelte. Die nackten Kerne überwoogen. Die Zellgrenzen wurden weniger scharf dargestellt, und die Chromatinmuster waren zum Teil homogen angefärbt. Nach 4 Monaten waren die Spuren, wie die der Leber, schmierig geworden. Zellen waren nicht mehr nachweisbar, lediglich eine homogene eosingefärbte Masse von fädiger Struktur war noch zu sehen. Die weitere Untersuchung wur-

de daher abgebrochen.

e) Die Zellalterung auf Baumwolle

Es wurde bei einer Sektion mit 6 etwa 4 cm^2 großen weißen Baumwolläppchen eine frische Schnittfläche der Milz abgewischt. Die Läppchen wurden einzeln in geschlossenen Briefumschlägen bei Zimmertemperatur in einer trockenen Schublade aufbewahrt. In Abständen von jeweils 1 Monat wurde ein Läppchen entnommen und ein etwa 1 cm^2 großes Stück herausgeschnitten. Diese Stücke wurden dann 12 Stunden in einer Abdampfschale mit 1 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung extrahiert. Der Extrakt wurde dann sofort auf mehrere Objektträger aufgetropft und eintrocknen gelassen.

Nach 1 Monat fanden sich in den beiden nach Papanicolaou bzw. mit Kresylechtviolett gefärbten Präparaten insgesamt 109 unscharf gefärbte Kerne und 31 Zellen mit kaum noch erkennbaren Grenzen und fast homogenen, scheibenartig gefärbten Kernen. Nach 2 Monaten fanden sich in einem der beiden nach Papanicolaou bzw. mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Präparaten etwa 900, meistens im Verband liegende Zellen. Die Kerne waren zum Teil noch differenziert angefärbt, ließen aber doch die feine Chromatinstruktur der frisch verarbeiteten Zellen vermissen. Aus den Verbänden ließ sich nicht auf die Organherkunft schließen, da keine typische Lagerung vorlag. Nach 3 Monaten waren in den 4 nach Papanicolaou bzw. mit Hämatoxylin-Eosin bzw. Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach bzw. nach Pappenheim-Unna ge-

färbten Präparaten insgesamt 78 unscharfe, meistens überfärbte, strukturelose Kerne und 57 unscharfe Zellen nachzuweisen. Die Zellen waren in ihrem Zytoplasma kaum angefärbt und in den Kernen eher überfärbt. Es fanden sich daneben zahlreiche Mikroorganismen, die das ganze Präparat bedeckten. Nach 4 und 5 Monaten waren praktisch nur noch Bakterien und Pilze nachweisbar. In den nach 4 Monaten hergestellten Präparaten hatte man stellenweise den Eindruck einer schattenhaften Zelle, welche von Bakterien bedeckt war. Es ist daher möglich, daß zur Autolyse zu dieser Zeit noch eine bakterielle Zytolyse hinzugekommen war. Viele der Bakterien fanden sich nämlich in Haufen von eckiger Form angeordnet, die entfernt an Zellen erinnerten.

f) Die Zellalterung auf Baumwollkordeln

Es wurde wie bei den identischen Versuchen mit der Leber eine weiße gewendelte Zierkordel von einem Durchmesser von 0,8 cm aus merzerisierter Baumwolle durch eine wieder zusammengeklappte frische Schnittfläche der Milz gezogen. Die Kordel wurde in 6 Stücke von 20 cm Länge zerschnitten und mit einem Klammerhefter auf Zeichenkarton geheftet. Die Kordeln wurden dann in einem Briefumschlag aufbewahrt. Nach 1 Monat Lagerung bei Zimmertemperatur wurde eine Kordel entnommen und mit einem feinen Skalpell über 4 Objekträgern abgekratzt. Die Schüppchen wurden in üblicher Weise mit AB-Serum aufgeschwemmt. Ein Präparat wurde mit Hämatoxylin-Eosin, eines mit Kresylechtviolett, eines nach Pappenheim-Unna und das letzte mit Peroxydase-Reagens nach

Knoll und Giemsa angefärbt.

Es fanden sich zahlreiche Zellverbände von bis zu 53 Zellen, aber ohne typische Milzstrukturen. Daneben lagen noch insgesamt 37 relativ differenzierte Einzelzellen und 130 nackte Kerne in den 4 Präparaten vor. Die Zahl der Zellen im Verband betrug 483. Die Kerne waren zum Teil schon homogen durchgefärbt, zum Teil war die Kernstruktur aber noch gut beurteilbar. Obwohl die Kordel makroskopisch blutig aussah, konnten keine Leukozyten und nur vereinzelt Lymphozyten gefunden werden. Daher war eine Beurteilung des Peroxydaseverhaltens, das UNDRITZ und HEGG zur Altersbestimmung heranziehen, nicht möglich. Nach 2 Monaten waren auch diese Spuren wie die der Leber schmierig und übelriechend verändert. Der Zellenachweis war negativ. Die möglichen Gründe für diesen Vorgang wurden im entsprechenden Absatz der Leberzelluntersuchungen besprochen.

4. Nierenzellen

a) Stiche durch die Haut

Bei Obduktionen wurde unmittelbar nach Eröffnung des Bauchraumes unter Sicht mit einfachen Küchenmessern durch die Haut der Flanken in die Niere gestochen. Es wurde darauf geachtet, daß der Stich nicht durch das Peritoneum geführt wurde, um ein der retroperitonealen Lage der Niere entsprechendes histologisches Bild zu erhalten. Die Messer wurden, wie bei den Untersuchungen der Leber und Milz, sofort staubdicht ver-

packt und 12 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Dann wurden sie mit einem feinen Skalpell über Objektträgern abgekratzt, die Schüppchen wurden mit AB-Mischserum oder mit 0,9 %iger NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Von den 18 Leichen, an denen die Untersuchungen vorgenommen wurden, wurden insgesamt 37 Präparate erhalten. Von diesen wurden 18 mit Kochsalzlösung und 19 mit AB-Mischserum in üblicher Weise aufgeschwemmt. 20 der Präparate wurden mit Hämatoxylin-Eosin, 5 mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach, 5 nach Graham-Knoll, 4 nach Lepehne, 2 nach Pappenheim-Unna und 1 nach Papanicolaou und mit Polychrom 3a gefärbt.

Je Einzelpräparat fanden sich 194 Zellen, 50,35 nackte Kerne und 13,43 kernlose Zellen. Diese durch Auszählen und Umrechnen auf die Präparatezahl erhaltenen Durchschnittswerte täuschen aber stärker, als dies bei den oben beschriebenen Untersuchungen der Leber und der Milz der Fall war. Denn die Hauptmenge der Zellen fand sich in 9 der 37 Präparate bzw. bei 4 der 18 Leichen. Die Mehrzahl der Präparate war deutlich ärmer an Zellen oder zellähnlichen Gebilden, als dies bei den Leber- oder Milzpräparaten der Fall war. Schon an den Messern waren geringere Spurenmengen zu sehen gewesen. Der Grund, warum gerade bei 4 der 18 Leichen besonders viel Material gewonnen werden konnte, liegt in den nur sehr spärlich entwickelten Fettkapseln der Nieren dieser Leichen. Es scheint so, als ob die Fettkapsel besonders viel Material von den Messern beim Herausziehen abstreift. Mindestens erschien dies auf Grund einer deutlichen Relation zwischen Zellzahl und Fettkapseldicke wahrscheinlich. Auch andere Zusammenhänge sind natürlich möglich, nur konnten sie bei diesen Untersuchungen nicht gefunden werden. Eine Abhängigkeit vom Alter

der Leichen, von der Dicke der Flankenmuskulatur oder den Todesursachen, bestand nicht. Wenn die 9 besonders zellreichen Präparate nicht mitgezählt werden, erhält man eine Durchschnittszellzahl von 18,5 Zellen und 8,9 nackten Kernen je Einzelpräparat.

Die Zellen waren meistens polygonal mit ovalen Kernen. Das Zytoplasma war zart gekörnt und relativ transparent. Die Kerngrenzen waren meistens etwas dichter und das Chromatin leicht gekörnelt, so daß die Kerne oft bläschenartig erschienen. Häufig stellte sich auch ein Nucleolus dar. Daneben fanden sich auch mehr runde Zellen mit etwas dichter strukturierten, zum Teil netzartig gezeichneten, runden Kernen (Abbildung 11). Das Kern-Plasma-Verhältnis beider Zelltypen betrug etwa 1 : 3. Auch mehr gestreckte Zellen von fast rechteckiger Form waren vereinzelt nachweisbar. Sie enthielten einen ovalen, ebenfalls gekörnelt Kern. In mehreren Präparaten waren Zellverbände nachweisbar, die in 8 Fällen an Glomerula erinnerten. 2 dieser Glomerula zeigten sogar das Vas afferens. 6mal fanden sich Verbände, die wie Tubuli recti gelagert erschienen. Die Glomeruli zeigten nie eine Bowman'sche Kapsel. Dennoch war die Struktur so ähnlich, daß die Diagnose möglich erschien. Die nackten Kerne zeigten zum Teil die Struktur wie in den oben beschriebenen Zellen, zum Teil waren sie dichter, fast homogen angefärbt. Daneben fanden sich auch vereinzelt Leukozyten und Histiozyten. In einem Präparat fand sich eine quergestreifte Muskelfaser. Fettgewebe oder Fettröpfchen waren trotz der oben angeführten Bedeutung der Fettkapsel nicht nachweisbar. Die Einzelzellen zeigten eine erstaunliche Ähnlichkeit mit denen in den Leberzellpräparaten. Nur waren die Zellgrenzen meistens noch unschärfer als bei den Leberzellen.

b) Stiche unmittelbar in das Organ

Es wurde bei Sektionen unmittelbar nach der Entnahme der Niere aus der Bauchhöhle in das nichtdekapsulierte Organ mit 3 Messern eingestochen. Die Messer wurden in üblicher Weise 12 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Klingen wurden mit einem feinen Skalpell über Objektträgern abgekratzt, und die Schüppchen mit einer Präpariernadel in je einen Tropfen AB-Mischserum je Präparat hineingezogen und darin zerstochen. Auffällig erschien die relativ geringe Materialmenge an den Klingen gegenüber den Versuchen mit Leber und Milz. Von den erhaltenen 6 Präparaten wurden 3 mit Hämatoxylin-Eosin, 2 nach Lepehne und Giemsa und 1 nach Pappenheim-Unna gefärbt.

Je Einzelpräparat fanden sich im Durchschnitt 388,66 Zellen, 142,83 nackte Kerne und 6 kernlose Zellen. Zellen des peripheren Blutes waren mit 15,62 je Präparat kaum vertreten, da diese Zahl sich sowohl auf das weiße, als auch auf das rote Blutbild bezieht. Leukozyten waren mit nur 4,8 je Präparat nachweisbar. Es fand sich keine mit Peroxydasefärbung Lepehne positive Zelle. Die Erythrozyten zeigten meistens Stechapfelformen. Es fanden sich also, ähnlich wie bei den Versuchen an der Leber, wider Erwarten nur geringe Blutbeimengungen. In einem der Präparate waren etwa 1800 Zellen in 8 Verbänden nachweisbar, sowie zwei glomerulum-ähnliche Formationen. Da die Zellen ziemlich klar gefärbt erschienen, und sämtliche Formen (wie in den Präparaten von Stichen durch die Haut) nachweisbar waren, schien es bei diesem Präparat möglich, die Diagnose "Niere" zu stellen. Auch bei der Leiche von der dieses Präparat stammte, war die Fettkapsel relativ dünn. Wenn man dieses eine besonders zell-

reiche Präparat nicht in Betracht zieht, verringern sich die Durchschnittszellzahlen auf 104,4 Zellen, die nacktkernigen nehmen auf 169,8 zu und die kernlosen Zellen betragen 5,42 je Einzelpräparat. Zu der statistischen Unsicherheit der relativ kleinen Zahl der Präparate kommen daher auch hier noch Ungenauigkeiten durch Zufallsbefunde. Auf der anderen Seite wird aber auch deutlich, daß es durchaus lohnend ist, überhaupt an Tatwaffen Zellen zu suchen.

c) Tupfpräparate

Auch hier wurde zur Feststellung der Haftfähigkeit der Zellen im Verband mit zwei Objektträgern auf eine frische Nierenschnittfläche gedrückt. Auf Grund der Festigkeit des Organes gelang es relativ gut, die Objektträger ohne nennenswerte Verschiebung abzuheben. Die beiden Präparate wurden nach dem Trocknen an der Luft bei Zimmertemperatur mit Formalin fixiert und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Es fanden sich klar angefärbte Zellen und vereinzelte nackte Kerne. Bei schwacher Vergrößerung meinte man, Mark und Rinde trennen zu können, was sich aber bei stärkeren Vergrößerungen als irrig erwies. Die Zellen lagen nur zu einem geringen Teil in Verbänden, die Nierenstrukturen, wie Tubuli und Glomerula, erkennen ließen. In der überwiegenden Zahl lagen die Zellen mehr wie in einem Ausstrich zerstreut. Ein so klares schnittähnliches Zellbild wie bei den vergleichbaren Lebersuchen fand sich nicht. Immerhin fanden sich aber sämtliche Zellen der Niere auf den Objektträgern wieder, wenn auch zum Teil in geringer Zahl. Die mehr viereckig-

gen Zellen der Tubuli recti mit ihrem etwas gestreckten und streifigen Kern waren relativ selten in den beiden Präparaten vorhanden. Die polygonalen Zellen mit ihrem bläschenförmigen gekörneltten Kernen, die wohl in der Mehrzahl Zellen der Tubuli contorti darstellen, machten die größte Gruppe aus.

d) Die Zellalterung auf Metall

Es wurde unter Sicht bei eröffneten Bauchdecken von der linken Flanke aus in die Niere einer Leiche mit 6 Messern eingestochen. Dabei wurde darauf geachtet, das Peritoneum nicht zu durchstoßen, entsprechend der retroperitonealen Lage der Niere. Die Messer wurden in einem staubdichten Kasten bei Zimmertemperatur aufbewahrt und in Abständen von jeweils einem Monat weiterverarbeitet. Sie wurden wie üblich mit einem Skalpell abgekratzt, und die Abstriche mit 0,9 %iger NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Von jedem Messer wurden 2 Präparate gewonnen, die mit Hämatoxylin-Eosin bzw. nach Papanicolaou und mit Polychrom 3c gefärbt wurden.

Nach einem Monat fanden sich Zellen, deren Zytoplasma meistens homogen angefärbt war, und deren Zellgrenzen deutlich unschärfer waren als die nach 12 Stunden angefärbten Zellen. Die Kerne zeigten scharfe Grenzen und ein nur leicht verschwommenes Chromatinmuster. Nach zwei Monaten waren die Zellen unscharf, zum Teil nur schattenhaft gefärbt, mit Kernen, deren Grenzen scharf waren, deren Struktur aber kaum noch erkennbar war. Die Kerne erschienen homogen-scheibchenförmig angefärbt.

In dem einen der beiden Präparate fanden sich sehr viele Bindegewebszellen und kaum den "Nierenzellen" des anderen Präparates entsprechende Zellen. Auf der einen Klingenseite war also offensichtlich beim Herausziehen des Messers ein größerer Teil der Faserkapsel abgestreift worden. Nach 3 Monaten fanden sich noch 35 Zellen und 20 nackte Kerne, die aber mehr homogenen Scheiben, denn echten Kernen entsprachen. Die Zellen waren kaum noch als solche ansprechbar. Die Grenzen waren verwaschen, das Zytoplasma homogen gefärbt, die Kerne zeigten einen randständigen dichten Chromatinsaum und ein homogen blasser gefärbtes Zentrum. Nach 4 Monaten waren die Spuren auf den Klingen schmierig. Die Anfärbung ergab keinerlei zell- oder kernähnliche Formen mehr. Als Grund hierfür sind die in den vorhergehenden Abschnitten angeführten Klimaverhältnisse in Bonn im Sommer anzusehen.

e) Zellalterung auf Baumwolle

Bei einer Sektion wurde eine frische Schnittfläche durch die Niere mit 8, je ca. 4 cm^2 großen, weißen Baumwolläppchen abgewischt. Die Äppchen wurden dann getrennt in Briefumschlägen bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Jeweils in Abständen von einem Monat wurde ein ca. 1 cm^2 großes Stückchen ausgeschnitten und in einer Abdampfschale mit 1 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung 12 Stunden extrahiert. Der Extrakt wurde dann auf mehrere Objektträger aufgetropft und nach dem Eintrocknen gefärbt. Nach einem Monat fanden sich in den beiden mit Papanicolaou und Polychrom 3c bzw, Kresylechtviolett gefärbten Präparaten insgesamt

79 scharfe Zellen, zum Teil im Verband liegend, 5 nackte Kerne homogener Färbung und 36 kernlose Zellen mit homogener Anfärbung und vereinzelt Vakuolen. Nach zwei Monaten fanden sich in den nach Papanicolaou mit Polychrom 3c bzw. Hämatoxylin-Eosin gefärbten Präparaten keine Zellen oder zellähnliche Gebilde. Lediglich Stoffasern waren nachweisbar. Auch hier handelte es sich wohl, ähnlich wie bei den Leberzelluntersuchungen, um eine zu geringe Durchtränkung des Stoffes mit Zellen, als daß man bei der Extraktion ein positives Ergebnis erhalten konnte. Nach drei Monaten fanden sich in den vier mit Hämatoxylin-Eosin, Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach, nach Pappenheim-Unna bzw. nach Papanicolaou mit Polychrom 3c gefärbten Präparaten insgesamt 70 unscharfe Zellen meistens polygonaler bzw. runder Form mit scheibchenartigen Kernen und mit einem randständigen Chromatinsaum. Daneben fanden sich 34 Kerne mit homogener dichter Anfärbung sowie zahlreiche Mikroorganismen und mehrere kernlose Zellen. Nach vier Monaten fanden sich in den mit Papanicolaou bzw. nach Lepehne gefärbten Präparaten lediglich vereinzelt, an Kerne erinnernde, schattenhafte, zart gefärbte Strukturen. Nach fünf Monaten fanden sich in den drei mit Papanicolaou, Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach und mit Peroxydase neben sehr zahlreichen Mikroorganismen der verschiedenen Formen nur ganz vereinzelt "Kernschatten".

Auf Grund dieser Befunde ist eine Einordnung der Nierenzellen auf histologischer Grundlage in Altersstufen nicht möglich. Es finden sich keine Kriterien, die es ermöglichen, auch nur in Monatsabstände einzuordnen. Auch die Annahme, daß, wenn Zellen nachweisbar sind, diese jünger als drei Monate (oder noch weiter gefaßt: jünger als vier Monate), sein

müssen, ist nicht haltbar. Lediglich wenn ganz klare Zellbilder gefunden werden, kann wohl gesagt werden: "jünger als 3 Monate". Wenn man aber schattenhafte kern- oder zellähnliche Formen findet, kann die Spur zwischen 3 und 5 Monaten alt sein. Diese Einteilung ist aber schon dann sehr fragwürdig, wenn, ähnlich wie in den Präparaten nach zwei Monaten, keine Zellen gefunden werden. Da die Spuren makroskopisch sichtbar waren, wird man bei unbekanntem Material durchaus meinen können, die Spur sei älter als fünf Monate alt. Im übrigen ist hier ja mit Sicherheit keine Organdiagnose mehr möglich.

f) Die Zellaltering auf Baumwollkordeln

Es wurde eine gewendelte, weiße Zierkordel aus merzerisierter Baumwolle durch eine frische, wiederzusammengeklappte Schnittfläche einer gerade der Leiche entnommene Niere gezogen. Die Kordel wurde dann in 6, je etwa 20 cm lange Stücke zerschnitten und mit Heftklammern auf Zeichenkarton fixiert. Der Karton mit den Kordeln wurde in einem Umschlag verschlossen einen Monat bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Dann wurde eine Kordel entnommen und über 4 Objektträgern mit einem Skalpell abgekratzt. Die Schüppchen wurden mit AB-Mischserum in üblicher Weise aufgeschwemmt. Je eines der Präparate wurde mit Hämatoxylin-Eosin, Kresylechtviolett, "Peroxydase-Knoll" und nach Pappenheim Unna gefärbt.

In den vier Präparaten waren insgesamt 38 Zellen, 25 nackte Kerne und 18 Kernschatten bzw. kernlose Zellen nachweisbar. Die intakten

Zellen waren unscharf begrenzt, das Zytoplasma war vermehrt gekörnelt, und die Kerne waren scheibchenartig-homogen angefärbt. Vereinzelt waren noch Zellformen mit annähernd polygonaler Begrenzung vorhanden, während die Mehrzahl mehr rundliche Formen zeigte. Die nackten Kerne waren ebenfalls scheibchenförmig-homogen gefärbt, zeigten aber häufig mehr randförmige Chromatinverdichtungen mit einem helleren Zentrum. Ein Nucleolus wurde nur zwei Mal gesehen. Nach zwei Monaten waren die Spuren auf den Kordeln, ebenso wie die von Leber und Milz schmierig und autolytisch geworden. Zellen oder Kerne konnten in den Präparaten, die durch Verteilen der schmierigen Spur mit der Spitze einer Präpariernadel hergestellt wurden, nicht nachgewiesen werden. Es fand sich lediglich homogene Anfärbung der Ausstriche, die von vereinzelt Mikroorganismen durchsetzt waren. Auch hier scheint eine Veränderung der Haltbarkeit der Spuren durch die speziell behandelten Baumwollfasern wahrscheinlich.

5. Differentialdiagnostischer Vergleich der Organzellen

Bei der Betrachtung von isolierten Zellen der Leber, Milz und Niere finden sich von der äußeren Form her fast stets Zellen, die in ihren Grenzen und ihrer Größe Zellen der jeweiligen Vergleichsorgane entsprechen. Die Einzelzelle der Milz erscheint im Durchschnitt zwar etwas kleiner zu sein als die der Leber und Niere, aber der Unterschied in der Verteilung verschieden großer Zellen ist keineswegs so typisch, daß hieraus eine Diagnose entwickelt werden könnte. Die Leberzellen sind häufig polygonal

mit einem ovalen, leicht gekörnten Kern mit etwas verdichteter Kerngrenze. Genau diese Art der Zelle ist sehr häufig in Präparaten der Niere und etwas weniger oft in denen der Milz anzutreffen. Das Zytoplasma aller 3 Zellen ist leicht gepunktet und erscheint, wenn die Zellen unfixiert gelagert wurden, dichter und wie von einem zarten Netzwerk überzogen. Auch die runden Zellen mit kleinerem, etwas dichterem Kern kommen in allen Präparaten vor. Auch gestreckte Zellen mit ovalem und bläschenartigem Kern sowie ovale und runde Zellen mit scheibchenförmigen, homogenen Kernen lassen sich in allen 3 Organpräparaten wiederfinden.

Lediglich in Präparaten der Milz kommen Zellen vor, die weder in Präparaten der Leber noch der Niere erscheinen. Diese Organe können dann als Herkunftsort ausgeschlossen werden. Jedoch erst ein Vergleich der Milzzellen mit den noch nicht untersuchten Körperzellen könnte den Nachweis bringen, daß es sich hier eindeutig um Milzgewebe handelt.

Von Seiten der Färbbarkeit waren ebenfalls keine deutlichen Unterschiede zu finden. Keine der Zellen verhielt sich peroxydasepositiv. Es zeigte sich daher stets nur eine Giemsa-Färbung der so behandelten Zellen. Lediglich bei der Papanicolaou-Färbung mit Polychrom 3a in frischen Paraffinschnitten fand sich eine zart grünblaue Färbung der Nierentubuli, die in keiner der Leber- oder Milzzellen zu finden war, deren Zytoplasma dunkelrosa angefärbt war. Dieser geringe Unterschied zeigte sich aber nicht an Spurenmaterial.

Abschließend läßt sich auf Grund der Untersuchungsergebnisse kein deutlicher Unterschied in Form, Größe oder Anfärbbarkeit von Leber-, Milz- und Nierenzellen angeben, der eine sichere Identifizierung ermög-

lichen könnte. Selbst an größeren Zellverbänden bereitet die Diagnose oft große Schwierigkeiten. Sie ist häufig auch an Verbänden von über 60 Zellen unmöglich.

E. Vergleich von Körperoberflächen-, Schleimhaut- und Organzellen

Für den Vergleich innerhalb der einzelnen Gruppen wird auf die gesonderten Kapitel verwiesen. Die Zellen der Körperoberfläche, also praktisch die Zellen der Epidermis, können in ihrer selteneren, abgerundeten Form mit den Zellen der Parabasalschicht der Vagina verwechselt werden, aber nur wenn man die grobe Form betrachtet. In stärkeren Vergrößerungen wird doch eine unterschiedliche Chromatinstruktur der Kerne deutlich. Die Kerne der Parabasalzellen sind dichter und zeigen eine streifige bzw. auch gekörnte Struktur. Die Kerne der Epidermiszellen zeigen eine mehr netzartige Struktur mit leicht verwaschenen Grenzen. Die runde Form der Epidermiszellen ist ja schon eine Art Abbauförmigkeit, welche sich fast nur in den durch Abkratzen gewonnenen Zellen findet. Normalerweise geht in der Epidermis die Spontanabschilferung der Kernverlust durch Karyolyse oder Karyorhexis voraus.

Die polygonale Epidermiszelle kann sehr leicht mit Leberzellen und Nierenzellen verwechselt werden. Ähnliche Formen kommen auch bei Milzzellen vor. Besonders von Bedeutung ist in Zusammenhang mit dem Fall J. die Verwechslungsmöglichkeit mit Leberzellen. Ein sicheres Unterscheidungsmerkmal zwischen Leber- und Oberhautzellen kann mit den hier verwandten Färbe- und lichtmikroskopischen Untersuchungsmethoden nicht angegeben werden.

Bei der Betrachtung von Einzelzellen ist eine Unterscheidung nicht möglich, sondern nur bei typisch gelagerten Zellverbänden. Auch die Betrachtung des Verteilungsbildes der verschiedenen Zelltypen in einem mit der Methode von UNDRITZ und HEGG hergestellten Präparat ist beim

Vergleich von Leber und Epidermis nicht erfolgversprechend. Dagegen scheint dies beim Vergleich mit der Milz wahrscheinlicher. Aber auch hier wird sich eine forensisch haltbare Diagnose nicht stellen lassen, da theoretisch die Möglichkeit besteht, daß die nicht in das Zellbild der Haut passenden Zellen der Milz, also z.B. die kleinen lymphozytenähnlichen Zellen, durch Lagerung veränderte Lymphozyten sind.

Aus diesem Grund erscheint es überhaupt nicht zulässig - abgesehen vielleicht von Vaginalsekretspuren - eine Diagnose auf das Zellverteilungsmuster zu stützen. Präparate von Nierenzellen können auch kaum sicher von Epidermiszellen unterschieden werden. Es können also Einzelzellen der Oberhaut, der Leber, der Milz, der Niere und unter Umständen auch der Parabasalzellschicht der Vagina miteinander verwechselt werden (Abbildung 12). Auch manche Formen des Abstrichs der Glans penis können in diese Gruppierung mit einbezogen werden, wobei aber fraglich ist, ob es sich bei diesen Zellen nicht um Epidermiszellen des Präputium handelt, die durch Abschilferung in das Smegma geraten sind. Auch im Nasenschleim kommen ganz vereinzelt Epidermiszellen vor, die dann natürlich alle oben angeführten Verwechslungsmöglichkeiten bieten.

Speichelzellen und Superfizialzellen der Vagina sind auf Grund ihres Kern-Plasma-Verhältnisses sicher von Organzellen und Oberhautzellen zu unterscheiden. Auch die Intermediärzellen der Vagina lassen sich von den hier untersuchten Organzellen und Oberhautzellen sicher abtrennen. Da bei annähernd gleichem histologischem Aussehen einer Einzelzelle sechs verschiedene Zellarten nach ihrer Herkunft unterschieden werden können, erscheint die Formulierung von UNDRITZ und HEGG in ihrem Gutachten im Fall J. : "Il s'agit indubitablement de cellules de foie" sehr gewagt. Bei

den obenbeschriebenen Untersuchungen ließ sich jedenfalls kein Kriterium finden, das eine solche Behauptung gerechtfertigt hätte.

F. Methodentechnik

1) Reduktionsprobe mit Triphenyltetrazoliumchlorid

Benötigte Reagentien: 1 %ige wässrige Lösung von 2, 3, 5 Triphenyltetrazoliumchlorid (Fa. Merck). 0,5 n Natronlauge.

Methode: Ein ca. 1 cm² großes Stück des Spurenträgers wird 1 Stunde in einer Abdampfschale mit 4 ml Aqua dest. extrahiert, und der Extrakt nach Entfernen des Spurenträgers im Brutschrank bei 100° C auf die Hälfte eingengt. Dann werden 0,1 ml des Extraktes - bei zu untersuchenden Flüssigkeiten 0,1 ml dieser selbst - mit 0,1 ml Triphenyltetrazoliumchlorid - Lösung und 0,05 ml der 0,5 n Natronlauge in ein Reagensglas gegeben und bei 80° C inkubiert. Bei positivem Ausfall der Reaktion kommt es nach wenigen Minuten zu einer rot bis rotviolettten Färbung und schließlich zu einem ebenso gefärbten fein- bis grobflockigen Niederschlag (THOMA³).

2) Substratgewinnung

a) Direkter Ausstrich

Mit einer etwa 0,5 cm breiten Fläche an der Schmalseite eines Objektträgers werden Mundschleimhaut, Vaginalschleimhaut, Oberfläche der Glans penis oder frische Organschnittflächen abgetupft oder abgeschabt. Vor dieser Flüssigkeitszone wird ein anderer Objektträger in einem Win-

kel von etwa 45° so aufgesetzt, daß sich in diesem Winkel durch Adhäsion eine walzenartige Flüssigkeitsansammlung bildet. Durch Zug des oberen Objektträgers von dieser Zone weg, bildet sich auf dem unteren Objektträger ein dünner Zell- und Flüssigkeitsfilm, der nach Lufttrocknen weiterbehandelt wird.

b) Trockene Präparation mit Aufschwemmen

Krustig eingetrocknete, also größere Spuren werden mit einer gebogenen Präpariernadel oder einem etwa 4 mm breiten, spitzen Skalpell über einem Objektträger abgeschabt und auf diesen fallengelassen. Es wird hierzu eine Lupenbrille oder eine große Lupe von etwa 10 Dioptrien verwendet. Besonders bei kleinen Spuren empfiehlt es sich manchmal, einen etwa 1 cm großen Kreis mit einem Diamantschreiber vorher auf dem Objektträger zu markieren. Die Schüppchen lassen sich in diesem Kreis dann leichter wiederfinden. Neben die Schüppchen wird dann ein etwa linsengroßer Tropfen des Suspensionsmittels (AB-Mischserum oder 0,9 %ige Kochsalzlösung) aufgetropft. Nun werden die Schüppchen mit der Präpariernadel in den Tropfen gezogen, und darin zerstoßen, falls sie größer als der Radius des Tropfens sind. Zerquetschen zerstört einen Teil der Zellen und ist daher zu vermeiden. Durch kreisförmige Bewegungen mit der Spitze der Präpariernadel wird dann der Tropfen auf etwa Zehnpfennigstückgröße ausgebreitet. Nach Lufttrocknen Weiterverarbeitung.

c) Extraktion

Im Wesentlichen ist dieses Verfahren für Sekretspuren auf Stoff, Papier oder ähnlichen Spurenträgern angezeigt. Aber auch bei Blut und Organspuren, die infolge von mechanischem Verlust von Krusten und Schüppchen nicht mehr für das Verfahren b geeignet sind, zeigt es manchmal noch brauchbare Ergebnisse.

Aus den Flecken werden etwa 1 cm^2 große Stücke geschnitten. Diese werden dann in einem Uhrglas mit 1 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung übergossen und etwa 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Mit einer Nadel wird dann der Spurenträger aus der Lösung entfernt und über ihr zwischen zwei Glasstäben ausgedrückt. Die Lösung wird mit der Nadel aufgeführt und in ein Zentrifugenröhrchen mit konischer Spitze gegossen. Es wird 10 min bei 3500 U/min zentrifugiert, und der Überstand mit einer Pipette bis auf 0,5 ml abgesaugt. Mit dem Rest wird das Sediment aufgeschüttelt. Mit einer Pipette werden 4 Objektträger mit je einem Tropfen beschickt. Nach Lufttrocknen Weiterverarbeitung. Da die Ausbeute meistens sehr gering ist, empfiehlt es sich manchmal, auch das zur Extraktion verwandte Uhrglas selbst zu färben. So können manchmal hier verbliebene Spuren noch nachgewiesen werden.

3) Fixation und Färbemethoden

a) Hämatoxylin-Eosinfärbung

Benötigte Reagentien: Formalin 40 %ig, Hämatoxylinlösung nach Delafield, Eosin gelblich, 70 %iger und 100 %iger Alkohol, Karbolxylol (1 Teil Phenol in 3 Teilen Xylol), Xylol, Canadabalsam

Ausführung: 12 Stunden Fixation in Formalin (1 Teil Formalin 40 %ig in 9 Teilen Wasser). Abspülen in Wasser 1 Stunde. Kernfärbung mit Hämatoxylin 8 - 10 min. Gründliches Wässern in mehrfach gewechseltem Leitungswasser 20 - 30 min. Färben in 1 %iger wässriger Eosinlösung (1 g Eosin in erwärmtem Wasser gelöst und auf 100 ml aufgefüllt), 2 - 4 min. Kurzes Auswaschen in Aqua dest. Kurzes Differenzieren in 70 %igem Alkohol. Sofortiges Überführen in 100 %igem Alkohol 5 min. Abtrocknen zwischen Fließpapier. Überführen in Karbolxylol 1 min. Überführen in Xylol 2 min. Eindecken mit Canadabalsam oder einem künstlichen Eindeckungsmittel. Differenzieren in Salzsäurealkohol nach der Hämatoxylinfärbung ist bei den untersuchten Spuren nicht angezeigt, da sie stets schwach und klar angefärbt sind (ROULET).

b) Färbung mit Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's Scharlach

(UNDRITZ)

Benötigte Reagentien: Methylalkohol, Hansen's Farblösung (A), Bieb-

rich's Scharlach-Lösung (B).

(A) Herstellung von Hansen's Lösung: Lösung a: 10 g Ferrialaun (violette Kristalle) und 1,4 g Ammoniumsulfat in 150 ml Aqua dest. durch leichtes Erwärmen auflösen. Lösung b: 1,6 g Hämatoxylin werden heiß in 75 ml Aqua dest. gelöst. Nach dem Erkalten wird Lösung b in ein Porzellengefäß getan und Lösung a (nicht umgekehrt!) unter ständigem Umrühren langsam hinzugegossen. Das Gemisch wird braun, blau und schließlich dunkelviolett. Langsam erwärmen bis zum Kochen, 30 - 60 sec kochen lassen, ohne viel zu rühren, um eine Oxydation zu vermeiden. Schnelles Abkühlen durch Stellen in ein Gefäß mit kaltem Wasser. Die Lösung muß dunkelbraun sein. Ein Grünstich weist auf zu starke Oxydation hin. Einfüllen in ein Gefäß aus Jenaer Glas bis oben und mit einem Gummistöpsel gut verschließen. Nicht filtrieren und nach Gebrauch zurückgießen.

(B) Herstellung von Biebrich's Scharlach-Lösung: 0,25 g Biebrich's Scharlach in Aqua dest. 100 ml kalt lösen.

Ausführung: Die lufttrockenen Präparate werden 10 min in Methanol fixiert. Trocknen lassen. 2 min färben in Hensen's Lösung, schnell mit Wasser abspülen, trocknen. Gegenfärbung mit Biebrich's Scharlach-Lösung 30 min. Schnell abspülen, trocknen lassen. Kerne violett, Erythrozyten, Hämoglobin und eosinophile Granula rot.

c) Färbung mit Hämatoxylin-Eosin-Orange nach Matthis (ROULET)

Benötigte Reagentien: Hämalaun (1 g Hämatoxylin, 0,2 g Natriumjodat und 50,0 g Kaliumalaun ad 1000 ml Aqua bidest.), Eosin-Lösung 1 %ig, Orange-G-Lösung (10 Tropfen gesättigter wässriger Orange-G-Lösung mit 10 ml 96 %igem Alkohol gemischt).

Ausführung: 8 min Kernfärbung in Hämalaun, 10 min in Leitungswasser waschen. Mit Eosin überfärben etwa 3 min. Unmittelbar danach in Orange-G-Lösung übertragen, wo sich die Eosindifferenzierung vollzieht, etwa 1 - 2 min. Kurz in 96 %igem Alkohol abspülen und mit Filterpapier abtrocknen. Xylolaufhellung. Canadabalsam. Das kollagene Bindegewebe erscheint orangegelb, elastische Fasern zinnoberrot, Skelettmuskeln karminrot. Erythrozyten rot bis rotbraun, Schleim knallgelb. Fixation 10 min in Äther-Alkohol (gleiche Teile 95 %iger Alkohol und Äther).

d) Methylenblaufärbung

Fixation über der Flamme. 30 sec. färben in Löffler's Methylenblau (30 ml gesättigte alkoholische Methylenblaulösung mit 100 ml Aqua dest. und 1 ml 1 %iger Kalilauge vermischt). Kerne dunkelblau. Zytoplasma blaßblau (ROULET).

e) Kresylechtviolett-Färbung

Benötigte Reagentien: Kresylechtviolett, Äthylalkohol 70 %ig und 96 %ig, Äther-Alkohol (s.o.).

Herstellung der Lösung: Konzentrierte wässrige Kresylechtviolett-Lösung nach der Filtration 2 Tage stehenlassen und dann mit gleichen Teilen 96 %igem Alkohol mischen.

Ausführung: Fixation in Äther-Alkohol 10 min. Färben in Kresylechtviolett-Lösung 5 min. Mit 70 %igem Alkohol differenzieren, bis keine Farbwolken mehr abgehen. Rasch in 100 %igen Alkohol überführen 3 min. 2 min Xylol. Mit Canadabalsam eindecken. Kerne sind dunkelviolett, das Zytoplasma zartviolett angefärbt (UNDRITZ¹).

f) Pappenheim-Unna-Färbung

Benötigte Reagentien: May-Grünwald-Lösung, Giemsalösung.

Ausführung: Das lufttrockene Präparat 3 min mit May-Grünwald-Lösung fixieren und nach Zusatz der gleichen Menge Aqua dest. noch 1 min färben, am besten auf der Färbebrücke. Farblösung abgießen und sofort mit frisch hergestellter Giemsa-Lösung (10 Tropfen auf 10 ml Wasser) 15 - 20 min färben. Gründlich mit Wasser abspülen und an der Luft trocknen. Kerne violett, Zytoplasma rosa (UNDRITZ¹).

g) Färbung nach Papanicolaou mit Polychrom 3a und 3c

Benötigte Reagentien: Hämatoxylin-Lösung nach Harris, Orange-G-Lösung, Polychrom 3a-Lösung (Merck EA 31), Polychrom 3c-Lösung (Merck EA 65), Diäthyläther, Äthanol 95-, 80-, 70-, 50 %ig, Äthanol absolut, Ammoniaklösung mindestens 25 %ig, Xylol, Canadabalsam.

Ausführung: Nach leichtem Antrocknen Fixation in Äther-Alkohol (gleiche Teile Äther und Alkohol 95 %ig) für 15 min. Durchführen der Präparate durch die absteigende Alkoholreihe (80-, 70-, 50 %iger Alkohol, Aqua dest.), jeweils kurzes Schwenken in den Küvetten. Kernfärbung in Hämatoxylin-Lösung 2 min. Abspülen in Aqua dest., solange Farbwolken abgehen. Bläuen in Ammoniak-Alkohol-Lösung (3 ml Ammoniak und 97 ml Alkohol 70 %ig), etwa 3 min. Durchführen durch die aufsteigende Alkoholreihe (50-, 70-, 80-, 95 %iger Alkohol). 2 min färben in Orange-G-Lösung. Kurzes Abspülen des überschüssigen Farbstoffs in 2 Küvetten mit 95 %igem Alkohol. 2 min färben in Polychrom 3a-Lösung bei Vaginal-, Glans penis- und Mundschleimhautzellen oder in Polychrom 3c-Lösung bei Organ- und Speicheldrüsenzellen. Nochmals kurzes Abspülen in 2 Küvetten mit 95 %igem Alkohol. Dann Überführen in 100 %igen Alkohol 2 min. 2 min Xylol. Eindecken in Canadabalsam. Zellkerne dunkelviolet. Mit Polychrom 3a-Lösung Schollen, azidophile Zellen und Erythrozyten rot, Zytoplasma intensiv grün. Mit polychrom 3c-Lösung Schollen, azidophile Zellen und Erythrozyten dunkelrot, Zytoplasma hellrot (Beipackprospekt der Firma Merck zu den Lösungen).

h) Peroxydasereaktion nach Graham-Knoll

Benötigte Reagentien: 10 %iger Formalin-Alkohol (10 Teile Formalin 40 %ig auf 90 Teile Äthylalkohol 96 %ig). Peroxydasereagens (eine Messerspitze Benzidin in 6 ml Alkohol gelöst, mit 4 ml Aqua dest. verdünnt. Dann werden 2 ml H_2O_2 3 %ig zugesetzt. Haltbarkeit verschlossen etwa 5 Tage).

Ausführung: Fixieren des lufttrockenen Präparates genau 25 sec mit Formalin-Alkohol auf der Färbebrücke. Abspülen, bis der Alkohol nicht mehr perlt, d.h. Schlieren zeigt, sondern das Wasser das Präparat gleichmäßig bedeckt (etwa 15 sec). Abschütten des Wassers. Sofort Aufgießen des Peroxydasereagens für 5 min. Abspülen mit Leitungswasser. Trocknen. Gegenfärben mit frischer Giemsa-Lösung (10 Tropfen auf 10 ml Wasser) für 20 min. Abspülen mit Selterswasser. Lufttrocknen. Nicht eindecken (UNDRITZ ¹).

i) Peroxydasereaktion nach Lepehne

Benötigte Reagentien: Benzidin, 96 %iger und 70 %iger Alkohol, Perhydrol, Giemsa-Lösung.

Herstellung der Lösung: 2 ml einer 0,6 %igen Benzidinlösung in 96 %igem Alkohol (0,144 g Benzidin in 24 ml 96 %igem Alkohol) werden unmittelbar vor dem Gebrauch mit 5 ml Perhydrol-Alkohol (0,5 ml Perhydrol in 4,5 ml 70 %igem Alkohol) gemischt. Nur der Benzidin-Alkohol ist längere Zeit haltbar.

Ausführung: Fixation und Reaktion durch Einstellen der Ausstriche für 5 min in das Lepehne-Reagens. Mit Wasser abspülen. Trocknen. 30 min Färbung in Giemsa-Lösung (10 Tropfen auf 10 ml Aqua dest.). Oxydase-Granula braun, außerdem Erythrozyten und Erythroblasten stark positiv (ROULET).

k) Lepehne-Färbung

Lösung: 24 ml 0,6 %iger Benzidinlösung (0,144 g Benzidin in 24 ml 96 %igem Alkohol) und 6 ml Perhydrol mit 54 ml 70 %igem Alkohol kurz vor der Reaktion zusammengegeben.

Ausführung: Fixation in Äther-Alkohol 10 min. Einstellen für 3 - 4 min in Lepehne-Lösung. Mit 50 %igem Alkohol und anschließend mit Aqua dest. spülen. Gegenfärbung mit Kernechtrot 5 min. Durchführen durch die aufsteigende Alkoholreihe (50-, 70-, 80-, 95-, und 100 %igen Alkohol). Xylol 3 min. In Canadabalsam eindecken (ROULET).

G. Zusammenfassung

Isolierte Zellen des Speichels, des Nasensekrets, der Vagina, der Glans penis, der Epidermis, der Leber, der Milz und der Niere wurden nach trockener Präparation oder nach Extraktion und Aufschwemmung in AB-Mischserum oder in 0,9 %iger NaCl-Lösung mit gebräuchlichen histologischen Färbungen vergleichend untersucht.

Durch Vergleich mit Blutserum, Urin und einer Ascorbinsäurelösung wurde festgestellt, daß der Speichelnachweis mit Triphenyltetrazoliumchlorid nach THOMA unspezifisch ist, und daß Speichelzellen nach Inkubation bei 100° C histologisch nicht mehr brauchbar sind. Obwohl die Papanicolaou-Färbung mit Polychrom 3a in Wangenschleimhautabstrichen oberflächliche Mundepithelien azidophil und tiefe Epithelien zyanophil darstellte, wurde dieser Unterschied beim Vergleich von Tüchern, die mit Spontanspeichel benetzt waren (als Modell für Abrinnsuren), mit Tüchern, die durch Kauen mit Speichel durchtränkt worden waren (als Modell für Knebel), nicht nachgewiesen. Die Beobachtung von ungefärbten polygonalen Mundschleimhautepithelien in Aqua dest. ergab nach 15 min eine Umwandlung in die runde Form der Speichelzellen.

Bei Untersuchungen von Vaginalzellen zur Bestimmung der Entstehungszeit einer Vaginalzellspur an Hand der zytologischen Befunde in verschiedenen Zyklusphasen zeigte sich, daß nur Zellen der mittleren Follikelphase und der Zeit des Follikelsprunges, und auch diese nur bedingt verwertbar sind.

Der Vergleich der Schleimhautzellen ergab, daß Speichelzellen und Oberflächen- sowie Intermediärzellen der Vagina trotz großer Ähnlichkeit

meistens an ihren Kernstrukturen unterschieden werden konnten. Verwechslungen waren möglich zwischen Zellen des Nasensekrets und Flimmerepithelien der Endocervix, Zellen der Glans penis und Parabasalzellen der Vagina sowie zwischen einem anderen Zelltyp der Glans penis und Speichel- und Vaginalzellen.

Die Behauptung, daß nur vital entstandene Hautfetzen Erythrozyten enthalten, wurde an der Leichenhaut widerlegt. Nach Schnitten in die Kopfhaut, Daumenhaut und Brusthaut konnten auf den benutzten Messern keine Zellen nachgewiesen werden. Auf Baumwollkordeln, die durch die Hautschnitte gezogen worden waren, fanden sich erst nach 3 Monaten Lagerung keine Zellen mehr. Eine Einordnung der Zellbilder der Haut nach ihrem Herkunftsort war histologisch nicht möglich.

Sodann wurden Zellen der Leber, der Milz und der Niere auf Messern, Baumwolltüchern und Baumwollkordeln untersucht. Das Verhältnis der Zellzahlen in Präparaten von Messern nach Stichen durch die Haut in das Organ und von Messern nach Stichen unmittelbar in das Organ betrug bei den Präparaten der Leber 126 : 188, bei denen der Milz 148 : 430 und denen der Niere 194 : 388 Zellen je Präparat.

Nach 3 Monaten Lagerung bei Zimmertemperatur waren auf Messern nach Stichen in die Leber, Milz oder Niere keine verwertbaren Zellen mehr nachweisbar, bei kühler Lagerung in einem Keller aber noch nach 6 Monaten. Bei der Untersuchung der Zellalterung auf Baumwolltüchern waren noch nach 3 Monaten Zellen von Leber, Milz und Niere nachweisbar, auf merzerisierten Baumwollkordeln aber schon nach 2 Monaten nicht mehr.

Zellen der Leber können mit denen der Milz, der Niere, der Haut

und manchen Zellen der Glans penis und des Nasensekrets verwechselt werden. Damit erwies sich die Behauptung der Literatur, es habe sich in einem berühmten Mordfall (der u. a. Anlaß der vorliegenden Themastellung war) "unzweifelhaft" um Leberzellen (auf einem Stichinstrument) gehandelt, als unhaltbar.

Die Papanicolaou-Färbung ist die optimale Methode zur Darstellung von Schleimhaut-, Epidermis- und Organzellen (12 typische Mikrophotographien).

H. Literatur

- BERG, H.: Methoden zum Nachweis von Genitalsekretspuren.
Z. gerichtl. Med. 42, 608, 1954
- BERG, H.: Neue Methoden für die Beweismitteluntersuchung bei Sittlichkeitsdelikten.
Kriminalwiss. (Beilage zur "Kriminalistik")
1, 25, 1954
- BOQUOI, E. und R. CORDOVA: Technik, Möglichkeiten und Grenzen der gynäkologischen Zytologie.
Deutsch. Ärztebl. 4, 193, 1966
- HEGG, P. und E. UNDRITZ: Die morphologische Untersuchung eingetrockneter Blutflecken und ihre forensische Bedeutung.
Wien. med. Wschr. 112, 294, 1962
- HOFFMANN, R. v.: Lehrbuch der gerichtlichen Medizin.
¹⁰Wien (Urban u. Schwarzenberg) 1923,
S. 510.
- HOLZER, F.: Speichel und Speichelflecken.
In: Handwörterbuch der gerichtlichen Medizin und naturwissenschaftlichen Kriminalistik, Berlin (Springer) 1940

- HUNT, A.: Changes in Shed of Epithelial Cells.
Med., Sci., Law 1, 143, 1962
- JELACIC, O.: Possibilité de l'identification de cellules
humaines sur une arme meurtrière après un
délai prolongé.
Acta Med. leg. 17, 19, 1964
- KEMPEN, P.: Untersuchungen für Blutalters- und Geschlechts-
bestimmung an Blutschüppchen.
Diss. Bonn 1961
- KOCKEL, W.: Nachweis von Organ- und Gewebsteilen in
Blutflecken auf Leinen und dergl. durch Unter-
suchung von gefärbten Schnittpräparaten nach
Zelloidin-, oder was sich weniger empfiehlt,
Paraffineinbettung der befleckten Stoffstücke.
In: Handbuch der Gerichtsmedizin, Ed. Schmidt-
mann, Bd. 1, S. 766 (1905) und Vjschr. ge-
richtl. Med., Suppl., 1908, 166
- KOSENOW, W., Bestimmung des chromosomalen Geschlechts
M. GLÖRFELD und aus dem Mundschleimhautabstrich.
U. HELLMANN: Klin. Wschr. 1957, 826
- LIU, W.: An Introduction to Gynecological Exfoliative
Cytology.
Ch. Thomas (Springfield) 1959

- MANT, K.: The Significance of the Penile Urethra at post-mortem.
J. forens. Sci. Soc. 2, 68, 1961-62
- MARESCH, W.: Zum Nachweis von Gewebsteilen an Tatwaffen.
Z. gerichtl. Med. 51, 560, 1961
- MARTIUS, H.: Lehrbuch der Gynäkologie.
⁷Stuttgart (Georg Thieme) 1962
SS. 16, 51
- MERKEL, H.: Über den Glykogengehalt der Scheidenepithelien, seine diagnostische Bedeutung und deren kritische Bewertung.
Z. gerichtl. Med. 4, 1, 1924
- MUELLER, B.: Über den Nachweis eingetrockneten Speichels in Tüchern.
Z. gerichtl. Med. 11, 211, 1928
- MUELLER, B.: Untersuchung von Speichel und Speichelflecken.
In: Gerichtliche Medizin, Heidelberg, Göttingen, Berlin (Springer) 1953, S. 121
- NELSON, D. und
P. KIRK: The Identification of Saliva.
J. forens. Med. 10, 14, 1963
- PAPANICOLAOU, G.N.: Atlas of Exfoliative Cytology.
Cambridge, Mass. (Harvard Univ. Press) 1954

- RADAM, G.: Zum Nachweis von Speichelspuren.
Beitr. gerichtl. Med. 23, 226, 1965
- REUTER, K.: Naturwissenschaftlich-kriminalistische Untersuchungen an menschlichen Ausscheidungen.
In: Abderhalden's Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. IV, Teil 12, 2. Hälfte, Heft 3, S. 305
- ROULET, F.C.: Methoden der pathologischen Histologie.
Wien (Springer) 1948
- SCHAI DT, G.: Eine neue Methode zum Nachweis kleinster Speichelspuren.
Arch. Kriminol. 118, 149, 1956
- SCHLEYER, F.: Persönliche Mitteilung
- SIMONIN, C.: Recherches et signification médico-légale des lambeaux épidermiques sous-ungéaux.
Ann. Méd. lég. 17, 889, 1937
- SQULLACI, G.: Diagnosi regionale di sangue umano.
Perfezionamento della tecnica per l'identificazione del sangue menstruale.
Diagnostica e Tecnica Labor. 10, 161, 1939,
Ref. Z. gerichtl. Med. 32, 73, 1939

- STENZ, K.: Über den Einfluß der Autolyse auf die Färbbarkeit der Plasmanukleinsäuren in der Rattenleber.
Acta histochem. 5, 321, 1958
- STÖHR, Ph. jr.: Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie des Menschen.
Berlin, Göttingen, Heidelberg (Springer) 1951
- THOMA, K.: Der Speichelnachweis mit Triphenyltetrazoliumchlorid.
Arch. Kriminol. 128, 38, 1961
- THOMA, K.: Eine weitere Methode zum Nachweis von Speichelspuren.
Arch. Kriminol. 128, 42, 1961
- THOMA, K.: Kombinierte Speichel-Blutgruppenbestimmung aus Spuren.
Arch. Kriminol. 128, 44, 1961
- UNDRITZ, E. und P. HEGG: Die morphologisch-hämatologische und zytologische Untersuchung eingetrockneter Blutflecken.
Schweiz. med. Wschr. 89, 1088, 1959
- UNDRITZ, E. und P. HEGG: Die morphologische Untersuchung eingetrockneter Blutflecken.
II. Teil: Anwendung an einem Beispiel.
Schweiz. med. Wschr. 90, 1223, 1960

- WEIMANN, W.: Über das Verspritzen von Gewebsteilen aus Einschußöffnungen und seine kriminalistische Bedeutung.
Z. gerichtl. Med. 17, 92, 1931
- WEIMANN, W.: Der Fall Hirschleb.
Arch. Kriminol. 7, 1, 1963
- WILLEME-PISSART, F.
et P. MOUREAU: Examen cytologique des taches biologiques.
Acta Méd. lég. 17, 31, 1964
- YOSHIDA, Kan-Iti: Über die gruppenspezifischen Unterschiede der Transsudate, Exsudate, Sekrete, Exkrete, Organextrakte.
Z. exper. Med. 63, 331, 1928
- YOSHIDA, Kazumi: On the Examination of Medicolegal Objects especially on the Test of Blood Stains, Saliva Stains and Seminal Stains.
Nagasaki Igakkai Zassi 35, 30, 1960
- ZERNDT, B. und
A. Simon: Über den Nachweis von Epidermisresten an Kleidern bei Bissverletzungen.
Arch. Kriminol. 129, 27, 1962

I. Abbildungen

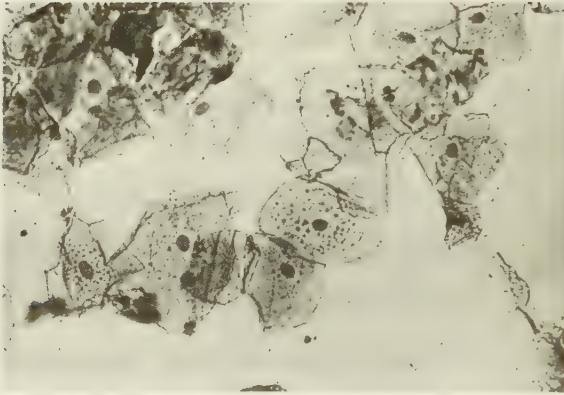


Abbildung 1: Präp. 17, Speichelzellen
Methylenblaufärbung, Vergr. 450fach

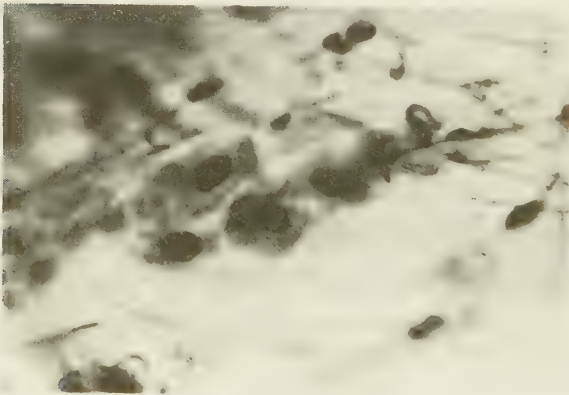


Abbildung 2: Präp. 169, Zellen im
Nasenschleim, Färbung nach Papanicolaou
mit Polychrom 3a, Vergr. 1000fach

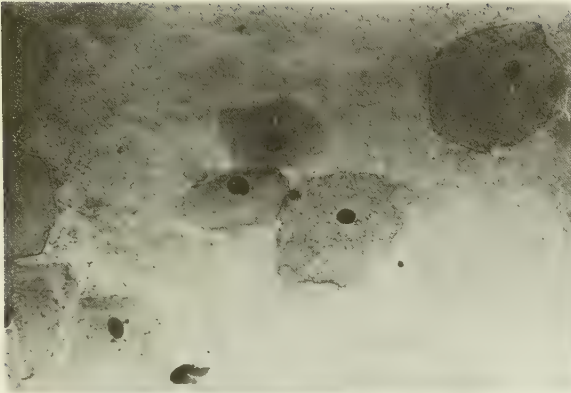


Abbildung 3: Präp. 146, Oberflächen-
und Intermediärzellen der Vagina, Fär-
bung nach Papanicolaou mit Polychrom 3a
Vergr. 450fach

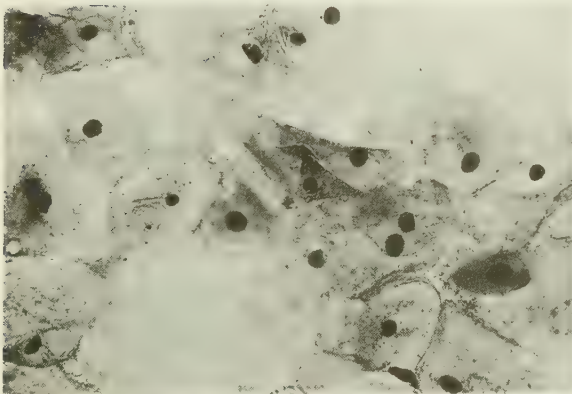


Abbildung 4: Präp. 149, Vaginalzellen
der mittleren Follikelphase, Färbung
nach Papanicolaou mit Polychrom 3a
Vergr. 450fach

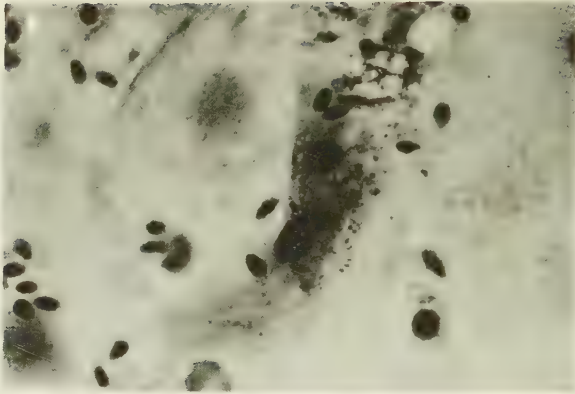


Abbildung 5: Präp. 153, Spermien und
Teil einer Superfizialzelle. Färbung
nach Papanicolaou mit Polychrom 3a
Vergr. 1000fach

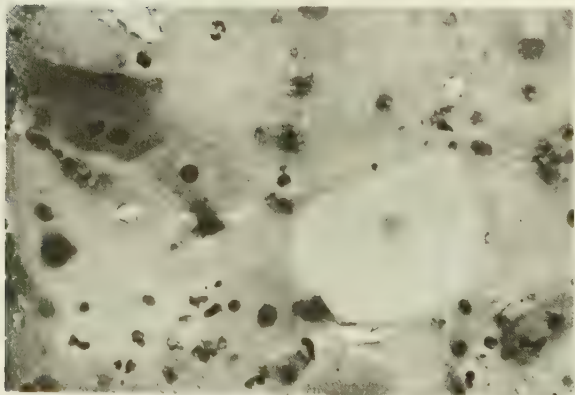


Abbildung 6: Präp. 273, Zellen in einem
Abstrich der Glans penis, Färbung nach
Papanicolaou mit Polychrom 3a
Vergr. 450fach

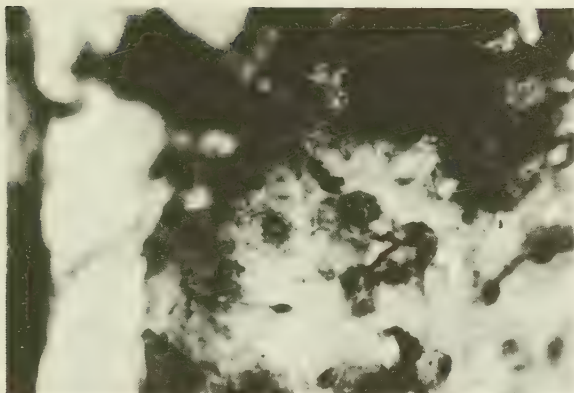


Abbildung 7: Präp. 239, Epidermiszellen
Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Vergr. 1000fach



Abbildung 8: Präp. 212, Leberzellen
Peroxydasereaktion nach Graham-Knoll
mit Giemsa-Färbung, Vergr. 1000fach

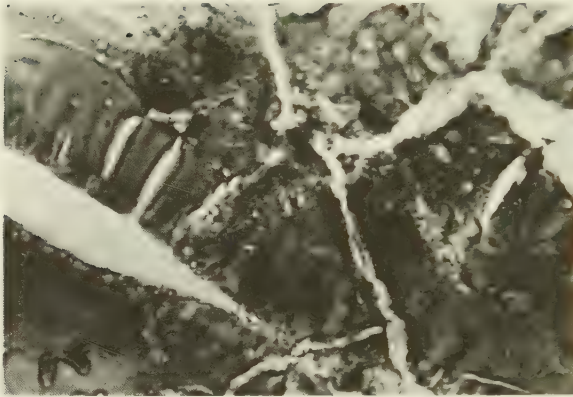


Abbildung 9: Präp. 212, Leberzellen
Peroxydasereaktion nach Graham-Knoll
mit Giemsa-Färbung, Vergr. 1000fach

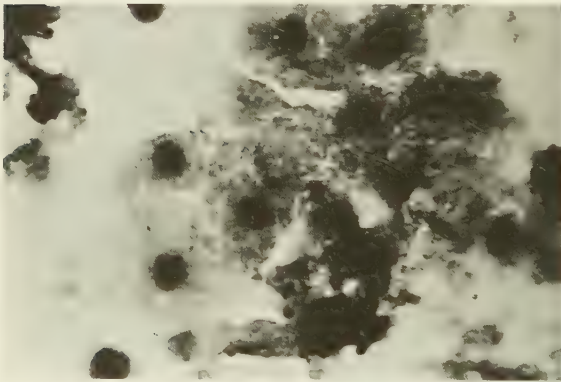


Abbildung 10: Präp. 236, Milzzellen
Hansen's Hämatoxylin und Biebrich's
Scharlach Färbung, Vergr. 1000fach

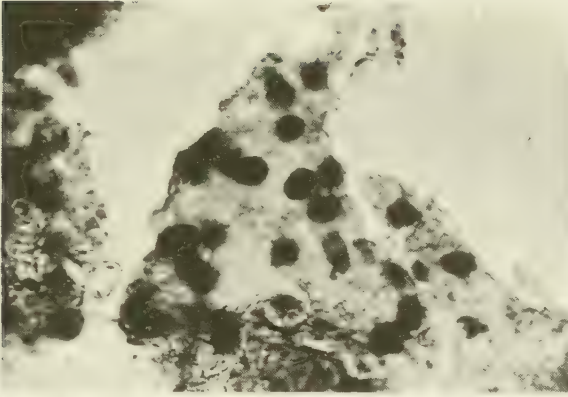


Abbildung 11: Präp. 106, Nierenzellen
Hämatoxylin - Eosin - Färbung
Vergr. 1000fach

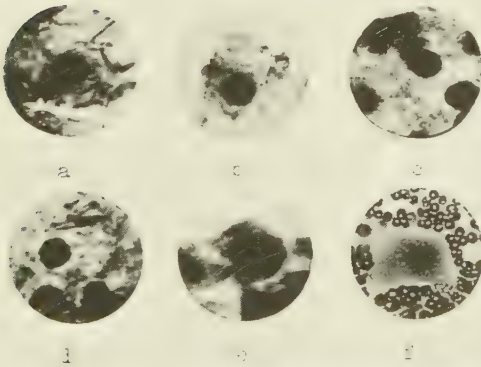


Abbildung 12: a) Leberzelle, b) Milz-
zelle, c) Nierenzelle, d) Hautzelle,
e) Zelle des Nasenschleims, f) Zelle
der Glans penis; Vergr. 1000fach

Die Mikro-Photographien wurden
mit einem Leitz bzw. Zeiss
Photo-Mikroskop auf Kodak Color
Negativ Film Material bzw. Agfa
IFF 17/10 DIN angefertigt.

Aus drucktechnischen Gründen sind
die Abbildungen um zirka 20 %
verkleinert wiedergegeben.

Herrn Prof. Dr. F. Schleyer danke ich für die Überlassung des Themas sowie für wertvolle Hinweise und Ratschläge bei der Abfassung der Dissertation.

Herrn Prof. Dr. H. Elbel und seinen Mitarbeitern danke ich für die Arbeitsmöglichkeit im Institut für Gerichtliche Medizin der Universität Bonn.

Herrn Prof. Dr. J. Rohen danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und
Dozenten:

in Bonn:

Bayer, Best, Böhm, Breuer, Büttner, Daneel, Dirscherl, Doepfmer,
Dohrmann, Domenjoz, Effenberger, Egli, v. Eiff, Elbel, Göppinger,
Gropp, Gütgemann, Habs, Hagen, Hamperl, Hauser, Haverkamp,
Helferich, Heymer, Hungerland, Janker, Korkhaus, Korte, Korth,
Kunert, Lange, Langenbeck, Langendörfer, Leydhecker, Lund, Mose-
bach, Mörsdorf, Mundt, J.K. Müller, Osberghaus, Paul, Penitschka,
Piekarski, Puck, Rath, Reifferscheid, Richter, Riezler, Rössler,
Schaede, Schleyer, Schriefers, Schumacher, Siebke, Steudel, Stöhr,
Tünnerhoff, Vorlaender, Wacholder, Weber, Weigelin, Weiker,
Weitbrecht, Zeh.

In Freiburg:

Büchner, Füsslin, Haas, Hahlbrock, Hahn, Heilmeyer, Keller,
Koslowski, Kraske, Krauss, Kümmerle, Noetzel, Poeck, Ruffin,
Sarre, Schubothe, Wiemers, Wimhöfer, Wöhler.

Lebenslauf

Am 13. Februar 1940 wurde ich, Werner Haas, als zweites Kind des Chefarztes Dr. Hanns Haas und seiner Ehefrau, der Praktischen Ärztin, Dr. Irmgard Haas, geb. Fischer, in Bonn geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Bonn trat ich 1950 in das Ernst-Moritz-Arndt-Gymnasium in Bonn ein und wurde 1952 Schüler des Staatl. Beethoven-Gymnasium, an dem ich im Februar 1959 die Reifeprüfung ablegte.

Mein Medizinstudium begann ich im Sommersemester 1959 an der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn. Hier bestand ich im Wintersemester 1960 die Naturwissenschaftliche und im Sommersemester 1961 die Ärztliche Vorprüfung. Im Sommer- und Wintersemester 1962 studierte ich in Freiburg und anschließend wieder in Bonn, wo ich im Sommer 1965 das Staatsexamen ablegte.

Im August 1965 trat ich meine Medizinalassistentenzeit im Pathologischen Institut Gelsenkirchen an. Von April 1966 bis Januar 1967 arbeitete ich auf der chirurgischen und auf der gynäkologischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses in Siegburg. Meine Medizinalassistentenzeit war im Juli 1967 nach sechsmonatigem Dienst auf der Inneren Abteilung des Dreifaltigkeitskrankenhauses in Wesseling abgeschlossen. Im August 1967 erhielt ich die Approbation.

Seither arbeite ich als Verwalter einer Wissenschaftlichen Assistentenstelle an der Chirurgischen Universitätsklinik München, Leiter Prof. Dr. R. Zenker.

